

**Berichte**  
aus dem  
**Institut für Meereskunde**  
an der  
**Christian-Albrechts-Universität • Kiel**

**Nr. 223**

**Bakterielle Fischkrankheiten in Untereider und Unterelbe und  
ihre Beeinflussung durch Umweltfaktoren**

DOI 10.3289/IFM-BER-223

vorgelegt von

Sören Ullrich

---

Kopien dieser Arbeit können bezogen werden von:

Institut für Meereskunde  
Abt. Marine Mikrobiologie  
Düsternbrooker Weg 20  
D-2300 Kiel 1, Germany

**ISSN 0341-8561**

Dissertation  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Kiel, 1992.

## Danksagung

Besonderen Dank schulde ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. G. Rheinheimer für die Annahme und Betreuung dieser Arbeit, die großzügige zur Verfügungstellung von technischen und finanziellen Mitteln und vor allem für die bei aufgetretenen Problemen stets vorhandene Hilfsbereitschaft.

Für die gute Zusammenarbeit möchte ich mich auch bei Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Möller und Frau Dr. K. Anders bedanken. So hatte ich nicht nur die Möglichkeit an von ihnen durchgeführten Ausfahrten teilzunehmen, sondern erhielt auch immer wieder neue Anregungen für meine Arbeit.

Ohne den unermüdlichen Einsatz der Besatzung der Forschungsbarkasse "Sagitta" wäre die Datenerhebung in diesem Umfange nicht möglich gewesen. Dabei wurden nicht nur die unzulänglichen Unterbringungsmöglichkeiten auf der "Sagitta" in Kauf genommen, ich wurde vielmehr auch bei der Probennahme hervorragend unterstützt. Dafür möchte ich mich ganz herzlich bei H. Manthe, K. Meller und H. Schramm bedanken.

Stellvertretend für alle, die mir außerdem während der Felduntersuchungen bei der Aufarbeitung des Probenmaterials halfen, möchte ich an dieser Stelle auch Mandy Kierspel ganz besonderen Dank sagen.

Prof. Dr. M. Yoshimizu (Hakkaido, Japan) half mir praktisch und mit vielen Tips bei der Untersuchung zur Intestinalflora von Flundern und Klieschen. Dr. J.-F. Bernadet (Jouy en Josas, Frankreich) stellte mir freundlicherweise drei Referenzstämme zur Verfügung und gab zudem zahlreiche Hinweise für die bakteriologischen Arbeiten. Einige praktische Arbeiten wurden unter der Mitarbeit von Dr. E.E. Antai (Calabar, Nigeria) durchgeführt.

Bei der Herstellung von Antiseren konnte ich auf die kollegiale Hilfe von Herrn Priv.-Doz. Dr. H.-U. Wottke (Hygieneinstitut, Kiel) zählen. Hermann Sich und Rolf Schmaljohann halfen mir bei der Rasterelektronenmikroskopie. Mit meinem Kollegen T. Wiklund (Åbo, Finnland) führte ich eine Reihe sehr aufschlußreicher Gespräche. Hans Sell unterstützte mich nach Kräften in allen technischen Angelegenheiten. Ohne die angeführten Hilfeleistungen wäre die vorliegende Arbeit in dieser Form nicht zustande gekommen. Allen Helfern sei deshalb ein herzliches Dankeschön ausgesprochen.

Für die Durchsicht des Manuskriptes und die wertvollen Anregungen bedanke ich mich bei Bernhard Karrasch, Maren Mehrens und Hermann Sich. Auch möchte ich meinem Zimerkollegen Bernhard Karrasch nochmals für die vielfältige Hilfe, vor allem aber für die stets hervorragende Atmosphäre, die so manches erleichterte, danken.

Auch allen anderen Mitgliedern der mikrobiologischen Abteilung gilt mein Dank für das angenehme Arbeitsklima und die freundliche Anteilnahme an meiner Arbeit.

Schließlich möchte ich auch meiner lieben Frau für die vielfältige Unterstützung ganz herzlich danken.

## Abstract

During a survey from 1989 to 1990 investigations were carried out on the epidemiology and etiology of bacterial fish diseases under special consideration of environmental factors. This study compared wild fish populations of different polluted downstream areas of the German rivers Elbe and Eider. 9900 and 24606 fishes respectively were caught and examined on external symptoms.

Scientific work was concentrated on three diseases: the ulcer disease is characterized of deep necrotic ulcera on the body surface of fishes during the acute phase. Necrosis and regression of fin tissue are the typical symptoms of fin rot. Both diseases occurred mainly in flounder (*Platichthys flesus*) and other flat fish.

Hitherto, the by reason of its striking external disease signs so called 'yellow pest' has been found in juvenile atlantic cod (*Gadus morhua*) only. Typical symptoms are yellow pigmented nodules, which normally occur in the mouth cavities or gills. Ulceration and progressive necrosis of infected tissues can be observed in succession. Long slender bacterial rods could be isolated from lesions of diseased cod. In respect to the results of biochemical tests this strain belongs to the *Flexibacter* - *Cytophaga* group. Comparing 45 phenotypical characteristics no agreement in total could be found between this strain and 3 reference strains which belong to the well known fish pathogenic species *Flexibacter columnaris*, *Cytophaga psychrophila*, and *Flexibacter maritimus*.

Virulence tests showed that the external symptoms could not be induced by different infection treatments of fish using bacterial suspensions. Also the owning of diseased and healthy cod showed no effect on healthy animals after 4 months. Nevertheless this bacteria strain seems to be important for pathogenesis with respect to the high bacteria numbers inside the yellow nodules and the typical yellow pigmentation of lesions.

Mainly flounder  $\geq 10$  cm were found to be affected by ulcer disease and fin rot. For this group investigation rates ranged from 0.4 - 3.6% and 0 - 9.0% at the different surveyed stations in the investigated areas of Elbe and Eider. Highest prevalences occurred in the central estuaries of both rivers. Seasonal differences manifested in higher prevalences during the summer than in winter time. As an exception a high infestation rate of 12.3% was found in November for the Eider. Average values of prevalences were 3.9% in the Eider and 2.4% in the Elbe river. Nevertheless this difference was not significant.

During simulation experiments most disease outbreaks were determined at higher incubation temperatures and higher salinities. In contrast outbreak were rare under limnic conditions and low temperatures.

Along with *Vibrio anguillarum* also other members of the family Vibrionaceae as *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, and *A. sobria* could be isolated from lesions and blood of fish showing ulceration or fin rot. The detection of *Pseudomonas fluorescens* was not frequent.

$10^2 - 2.4 \times 10^3$  motile aeromonads  $\times \text{ml}^{-1}$  and  $10^2 - 2.4 \times 10^5$  cells  $\times \text{m}^{-3}$  were counted in water and sediment samples of both river areas.

Furthermore *Vibrio anguillarum* concentrations in water were up to  $3 \times 10^3$  CFU  $\times \text{ml}^{-1}$  and up to  $7 \times 10^3$  CFU  $\times \text{ml}^{-1}$  in Eider and Elbe samples. In sediments up to  $6 \times 10^5$  CFU  $\times \text{cm}^{-3}$ ,  $2 \times 10^5$  CFU  $\times \text{cm}^{-3}$  respectively were determined.

Examination of the intestinal contents of healthy flounders and dabs showed that *Vibrio* and *Aeromonas* also belong to the natural flora of these fishes. Densities of  $2 \times 10^4$ -  $2 \times 10^6$  cells  $\times g^{-1}$  intestinal content were found. As a criterium of pathogenic potency hemolytic activity was tested on blood agar. 28 of 30 *Vibrio anguillarum* strains and 24 of 30 *Aeromonas hydrophila* strains isolated from diseased fish realized hemolysis. 7 of 10 water strains of both species showed  $\beta$  - hemolytic activity as well. In contrast only 1 of 10 examined *Pseudomonas fluorescens* strains had this capability. Using bacteria suspensions typical external symptoms of ulcer disease occurred after subcutaneous injection of  $10^8$  cells of different *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas hydrophila* strains. Strains isolated from diseased fish showed a higher virulence than strains isolated from water samples. Using a concentration of  $10^4$  cells external disease signs of infected tissues were only induced in the case of strains isolated from fish. No effect was observed after injection of water strains using the same concentration. These results show that the *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas hydrophila* densities examined in the field must not necessarily lead to a disease outbreak.

The distribution of potential fish pathogenic bacteria in the field supports these observations. In both river areas highest cell numbers were determined in the upstream regions. On the contrary highest prevalences occurred downstream in the central estuaries.

A similar distribution was observed for total bacteria numbers (TBN) and counts of saprophytic bacteria. Both numbers decreased downstream. Furthermore the proportional stronger decrease in saprophytic bacteria indicated a steady decrease of organic pollution downstream.

Concentration gradients of hydrochemical components corresponded with these data. Progressing seawards a decrease in biochemical oxygen demand (BOD), as well as in ammonia, nitrite, and nitrate concentrations was determined. Furthermore pH should have no effect as a stress factor because the measured pH range (pH 7,5 - 8,1) can be seen as well acceptable for fish.

In conclusion no disease specific invaders could be detected in the case of ulcer disease and fin rot in wild fish of the investigated area. Experiments showed that *Vibrio anguillarum* as well as *Aeromonas hydrophila* strains are able to cause ulceration. The prevalence of disease in the field seems not to be a function of bacteria densities, high organic pollution or high concentrations of chemical components and suboptimal oxygen conditions. Although the Elbe river is more polluted a higher prevalence of diseased flounders was determined for the Eider.

No significant correlation was ascertained between flounder abundances and determined infestation rates. In contrast there was an interrelation between increasing prevalences on one side and increasing temperature and salinity on the other side. This relation was found under natural conditions and in experiments as well.

## Inhalt

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	3
2.1	Beschreibung der Untersuchungsgebiete	3
2.1.1	Das Untersuchungsgebiet Unterelbe	4
2.1.2	Das Untersuchungsgebiet Untereider	5
2.2	Felduntersuchungen	6
2.2.1	Stationsplan und Probennahme	6
2.3	Bakteriologische Untersuchungen	11
2.3.1	Monatliche Eider- und Elbeproben	11
2.3.2	Intestinalflora von Flundern und Klieschen	14
2.3.3	Untersuchungen an erkrankten Kabeljaus	15
2.4	Simulationsexperimente	17
2.5	Virulenzversuche	20
3	Ergebnisse	22
3.1	Bakterielle Infektionskrankheiten der Fische	22
3.2	Auswertung der hydrophysikalischen und -chemischen Daten	26
3.3	Prävalenzen der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule im Untersuchungsgebiet	37
3.3.1	Gesamtfang	37
3.3.2	Regionale und saisonale Verteilung erkrankter Flundern im Untersuchungsgebiet	39
3.4	Ergebnisse der bakteriologischen Felduntersuchungen	43
3.4.1	Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule	43
3.4.2	Bakterielle Belastung des Wassers und des Sediments im Untersuchungsgebiet	44
3.4.3	Intestinalflora von Flundern und Klieschen	56
3.4.4	Ergebnisse der Kabeljauuntersuchungen	58
3.5	Simulationsexperimente	61
3.5.1	Hydrophysikalische und -chemische Bedingungen	61
3.5.2	Auftreten von Hautgeschwüren und Flossenfäule	63
3.5.3	Bakteriologische Parameter	67
3.6	Ergebnisse der Infektionsversuche	72
3.6.1	Infektionsversuche an Flundern	72
3.6.3	Infektionsversuche an Kabeljaus	76

4	Diskussion	78
4.1	Methodik	78
4.2	Zur Ätiologie der untersuchten Fischkrankheiten	80
4.2.1	Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule	82
4.2.2	Pathogenität und Virulenz der mit Hautgeschwür- krankheit und Flossenfäule assoziierten Bakterienarten	87
4.2.3	Zur Ätiologie der gelben Pest	87
4.3	Bewertung hydrophysikochemischer und bakteriologischer Parameter	90
4.3.1	Temperatur und Salzgehalt	90
4.3.2	Hydrochemische Parameter	92
4.3.3	Bakteriologische Parameter	98
4.3.4	Andere Faktoren	101
5	Zusammenfassung	103
6	Literatur	105

## 1 Einleitung

Bakterielle Erkrankungen sind oft für die Mortalität von wildlebenden und in Kultur gehaltenen Fischen verantwortlich. Besonders durch die intensive Fischhaltung und den weltweiten Ex- und Import von Fischen wird der Ausbruch und die Verbreitung bakterieller Fischkrankheiten begünstigt. Ihre Bedeutung hat aufgrund der hohen, in der Aquakultur auftretenden Verluste zugenommen (Richards et al. 1985). Allein in Japan wird der durch Vibriose - neben der Furunkulose die weltweit bedeutendste bakterielle Fischkrankheit - hervorgerufene jährliche Verlust auf 11.000.000 £ geschätzt (Austin & Austin 1987). Auch für die Hochseefischerei können Bakterienkrankheiten von Bedeutung sein wie die Untersuchung von McKenzie (1988) über die Fischtuberkulose von Makrelen des Nordost-Atlantiks zeigt. Während im Bereich der Aquakultur aufgrund der zahlreichen Untersuchungen bereits eine Vielzahl von Erkenntnissen zur Ätiologie und Epidemiologie bakterieller Krankheiten vorliegen (Schlotfeldt 1985, Austin & Austin 1987), sind die Erreger, die Verbreitung und die Ursachen solcher Krankheiten bei Wildbeständen vielfach noch unbekannt. Besonders in Gebieten mit intensiver Aquakultur (z.B. Japan, Norwegen, Schottland) können natürliche Bestände über kontaminiertes Wasser infiziert werden. Bakterielle Fischkrankheiten treten jedoch auch natürlicherweise in Wildbeständen auf. Die älteste Beschreibung einer bakteriellen Erkrankung stammt bereits aus dem 18. Jahrhundert. 1761 beschrieb Bonaveri erstmals das seuchenhafte Auftreten der "Roten Pest" bei Aalen an der italienischen Küste (Hofer 1904, Droin de Boville 1907), der bakterielle Erreger dieser Krankheit wurde später von Canestrini (1893) nachgewiesen.

Hinsichtlich der bakteriellen Erreger kann zwischen zumeist wirtsspezifischen, primär pathogenen Arten - hierzu gehört beispielsweise *Aeromonas salmonicida*, der Erreger der Furunkulose - und opportunistischen oder fakultativ fischpathogenen Bakterienarten mit saprophytischer Lebensweise, die im Zusammenhang mit geschwächten und anfälligen Fischen eine Rolle spielen, unterschieden werden. Zur letztgenannten Gruppe sind *Aeromonas hydrophila* und *Pseudomonas fluorescens* zu zählen, die im Zusammenhang mit hämorrhagischen Septikämien bei verschiedenen Fischarten auftreten können (Austin & Austin 1987).

Die Anfälligkeit von Fischen gegenüber Krankheiten kann in einigen Fällen z.B. durch Laichstreß erklärt werden. Vielfach ist jedoch noch ungeklärt, inwieweit andere Faktoren den Ausbruch solcher Krankheiten begünstigen. Untersuchungen haben gezeigt, daß die bakterielle Flora der Fische ein direktes Spiegelbild der bakteriellen Flora des Wassers darstellt (Richards et al. 1985). Besonders für stark belastete, küstennaher Gewässer gilt es deshalb, die Kenntnisse über die Zusammenhänge zwischen Gewässerbelastung, hoher Bakteriendichten sowie anderer "Umweltstreßfaktoren" und dem Auftreten bakterieller Fischkrankheiten zu erweitern.

In verschiedenen Pilotstudien wurde versucht, geeignete Methoden zur Durchführung eines biologischen Effektmonitorings zu entwickeln. Ein im Auftrag des Umweltbundesamtes 1988 - 1990 durchgeführtes Forschungsprojekt "Fischkrankheiten im Wattenmeer" (UBA - FB 10204373) schloß neben epidemiologischen und histopathologischen Untersuchungen (Anders & Möller 1991) auch Untersuchungen zur Schadstoffbelastung und -auswirkung auf Flundern mit ein.



In der Unterelbe erfolgten bereits zwischen 1981 und 1982 sowie zwischen 1984 und 1986 Untersuchungen zum Fischbestand und den dort auftretenden Fischkrankheiten (Möller 1988). Ähnliche Untersuchungen wurden in dänischen (Miljø - Projecter 1981) und holländischen Küstengewässern (Vethaak 1985, Vethaak & Meer 1991, Vethaak & Rheinalt 1990) durchgeführt.

Die Untersuchungen in der Unterelbe ergaben für eine Reihe von Krankheiten hinsichtlich der Befallsraten deutliche regionale und saisonale Unterschiede. Dies konnte besonders am Beispiel der Flunderkrankheiten gezeigt werden. Die Flunder zählt neben anderen euryhalinen Arten wie Finte, Stint und Aal zu den dominierenden Fischarten der Unterelbe und ist dort überall vertreten. Neben der Lymphocystiskrankheit, deren virale Ätiologie bekannt ist, traten die Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule, zwei bakterielle Infektionskrankheiten, am häufigsten bei Flundern auf.

Die höchsten Prävalenzen wurden für das zentrale Ästuar gefunden (Möller 1988). Hypothetisch wird dies auf das geringe Angebot von benthischen Nahrungsorganismen und die daraus resultierende schlechte Kondition von Fischen zurückgeführt (Möller 1990), die im zentralen Ästuar gegenüber den anderen Bereichen der Unterelbe festgestellt wurde (Fiedler 1983, 1990). Nach dieser Hypothese kann dadurch die erhöhte Krankheitsanfälligkeit der Tiere erklärt werden.

Erste bakteriologische Untersuchungen zur Klärung der Ätiologie dieser beiden Krankheitsformen wurden bereits durchgeführt. Dabei konnten aus den Läsionen und dem Blut erkrankter Fische verschiedene zur Familie der Vibrionaceae zählende Bakterienarten isoliert werden (Ullrich 1989). Ein Zusammenhang zwischen der Dichte dieser potentiell fischpathogenen Arten im Wasser und den auftretenden Prävalenzen konnte aber nicht festgestellt werden. Bisher wurden weder die Virulenz dieser aus Fischen und dem Wasser isolierten Bakterienstämme, noch die Auswirkungen von "Umweltstressfaktoren" auf den Ausbruch und die Verbreitung der beschriebenen Krankheiten untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb neben dem Nachweis der Pathogenität und der Virulenz isolierter Bakterien, die Untersuchung der Einflüsse von Umweltfaktoren wie Temperatur- und Salzgehaltsfluktuationen, organischer Belastung, Bakterientitern sowie anderen, möglichen Stressfaktoren (Sauerstoffgehalt, Ammonium-, Nitrat-, Nitritkonzentrationen). Um die Auswirkungen einzelner Parameter besser beurteilen zu können, wurden die Felduntersuchungen vergleichend in zwei unterschiedlich stark belasteten, tidenbeeinflussten Flußabschnitten - der Untereider und der Unterelbe - durchgeführt.

Zur Absicherung der unter den komplexen Feldbedingungen ermittelten Befunde, erfolgten ergänzend unter kontrollierten Bedingungen durchgeführte Simulationsexperimente.

Neben den zur Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule durchgeführten Arbeiten, ergab sich auch die Möglichkeit, bakteriologische Untersuchungen an einer neu beschriebenen, 1987 erstmals im Rahmen des UBA-Projektes "Fischkrankheiten im Wattenmeer" festgestellten Kabeljaukrankheit unbekannter Ätiologie durchzuführen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Beschreibung der Untersuchungsgebiete

Um die Auswirkungen von Umweltfaktoren auf den Ausbruch und die Verbreitung bakterieller Fischkrankheiten zu untersuchen, wurden vergleichende Felduntersuchungen in unterschiedlich stark belasteten, tidebeeinflussten Flußabschnitten der Elbe und Eider durchgeführt.

Die Unterelbe, mit einem Gesamteinzugsgebiet von  $149000 \text{ km}^2$  (bezogen auf das Querprofil Cuxhaven) gilt nach den Untersuchungen der "ARGE Elbe" (Arbeitsgemeinschaft zur Reinhaltung der Elbe), die dort seit Mitte der 70er Jahre hydrographische und hydrochemische Daten erhebt, als mäßig bis stark belastet (ARGE ELbe 1984). Mittlerweile ist in den alten Bundesländern durch wasserrechtliche Maßnahmen und dem daraus resultierenden Neu- und Ausbau von Abwasserbehandlungsanlagen sowie durch die Umstellung innerbetrieblicher Produktionsverfahren eine deutliche Verminderung der Einträge in die Elbe eingetreten. Die starke Belastung der Unterelbe wird heute zum überwiegenden Teil ( $> 90 \%$ ) auf die hochgradige Verschmutzung durch die Oberliegerländer (CSFR, östl. Bundesländer) zurückgeführt (ARGE Elbe 1991). Neben der erheblichen organischen Belastung ist vor allem die Belastung durch Schwermetalle von Bedeutung. So gilt die Elbe beispielsweise als herausragende Quelle für den Eintrag von Hg in die deutsche Bucht (Anonymus 1989a).

Die Untereider hingegen liegt nicht im Einzugsbereich eines stark industrialisierten Hinterlandes. Das ungleich kleinere Einzugsgebiet von  $2088 \text{ km}^2$  wird überwiegend von der Landwirtschaft ( $91 \%$ ) beeinflusst. Weniger als  $6 \%$  entfallen auf bebaute Flächen. Die größte Schmutzfracht wird mit den kommunalen Abwässern der Stadt Rendsburg in die Eider eingeleitet. Eine hohe Belastung der Eider erfolgt vor allem durch die Vorfluter Hamdorf und Wittenberge. Untersuchungen des "Landesamtes für Wasserhaushalt und Küsten Schleswig-Holstein" (1987) zeigten im Bereich der Binneneider unterhalb von Rendsburg schlechte Sauerstoffverhältnisse und eine Verarmung an tierischen Organismen. Der übrige Abschnitt der Binneneider wird als mäßig belastet eingestuft, der biologische Güteindex (Saprobienindex nach Liebmann (1960)) mit  $\beta$ -mesosaprob beschrieben. Für drei Dauermeßstationen im Bereich der Tideeider (Nordfeld Schleuse, Friedrichstadt, Tönning) wurden im Jahresmittel die Wassergüteklassen I-II und II ermittelt. Dieser Bereich kann also als gering bis mäßig belastet angesehen werden (Landesamt für Wasserhaushalt und Küsten 1979, 1987).

Im Gegensatz zur Elbe konnten in der Eider selbst in Regenwasser- und Abwassereinleitungen nur geringe Schwermetallkonzentrationen festgestellt werden, die unter den Grenzwerten der Trinkwasserverordnung und der EG-Richtlinie-Wasser lagen.

### 2.1.1 Das Untersuchungsgebiet Unterelbe

Das zwischen Mühlenberger Loch (Stromkilometer 635) und Cuxhaven (Stromkilometer 725) gelegene Untersuchungsgebiet liegt im Bereich des mittleren und unteren Abschnitts der Tideelbe. Eine Reihe von Nebenflüssen mündet in diesen Abschnitt der Elbe. Linksseitig entwässern die Este, Lühe, Schwinge und Oste, rechtsseitig die Pinnau, Krückau, Rhin und Stör ihre Einzugsgebiete.

Der zwischen Teufelsbrück und Glückstadt gelegene mittlere Abschnitt weist noch nahezu limnische Verhältnisse auf. Wasserstände und Strömungen sind in erster Linie durch die Gezeitenbewegung bestimmt. Die seewärts gerichtete Verdriftung von Wasserkörpern ist dabei stark von den Oberwasserabflüssen abhängig. Sind diese niedrig, resultieren lange Verweilzeiten der Wasserkörper. Bei höheren Temperaturen und hoher bakterieller Aktivität kann es dabei zu starker Sauerstoffzehrung kommen, zumal der Sauerstoffeintrag über die Wasseroberfläche aufgrund des gegenüber den oberen Elbabschnitten ungünstigeren Oberfläche/Volumen-Verhältnisses weniger bedeutend ist. In einigen Jahren konnten sich über die Sommermonate ausbreitende Sauerstofftöler im Bereich des Fahrwassers zwischen Glückstadt und Hamburger Hafen beobachtet werden (ARGE Elbe 1984).

Der zwischen Glückstadt und Cuxhaven gelegene untere Abschnitt der Tideelbe ist gekennzeichnet durch Vermischungsvorgänge von Salz- und Süßwasser. Besonders das zwischen Brunsbüttel und Cuxhaven gelegene zentrale Ästuar stellt aufgrund der tidenbedingten, periodischen Verschiebung der Wasserkörper und den dadurch bedingten hohen Salzgehaltsschwankungen einen extremen Standort für Organismen dar (ARGE Elbe 1984). Bei hohen Oberwasserabflüssen verschiebt sich die Brackwasserzone stromabwärts bis unterhalb Brunsbüttel, bei niedrigen Abflüssen hingegen dringt die Brackwassergrenze bis oberhalb Kollmar stromauf vor.

Ein weiteres Charakteristikum dieses Flußabschnittes ist seine besondere morphologische Form mit tiefer Hauptstromrinne und flachen Randgebieten wie Watten und Sänden (Neufelder Watt, Neufelder Sand, Medem Sand, Kratzsand).

Aufgrund der besonderen hydrographischen Verhältnisse im Untersuchungsgebiet ergibt sich eine interessante Fischfauna, die sich aus marinen, euryhalinen und limnischen Arten zusammensetzt (zwischen 1981 und 1986 wurden 66 Fischarten gefunden, 35 davon gehören zur marinen Fauna). Euryhaline Arten wie Stint (*Osmerus eperlanus*), Aal (*Anguilla anguilla*) und Flunder (*Platichthys flesus*) treten am häufigsten auf. Stör (*Acipenser sturio*) und Schnäpel (*Coregonus oxyrinchus*) gelten als ausgestorben. Aufgrund von Besatzmaßnahmen werden heute auch wieder Lachse (*Salmo salar*) und Meerforellen (*Salmo trutta*) gefangen (Möller 1988).

Die um die Jahrhundertwende noch blühende Elbfischerei -Sternier (1916b) berichtete von insgesamt 942 Fischereifahrzeugen und 1650 Fischern auf der Unterelbe- erfuhr im Laufe der Zeit einen rapiden Rückgang, der auf Wasserverschmutzung, wasserbauliche Maßnahmen und Überfischung zurückgeführt wurde (Möller 1988). 1987 waren nur noch 8 Hamenkutter und 65 Nebenerwerbsfischer auf der Unterelbe registriert (Rönnau 1987). Heute stützt sich die Fischerei in der Unterelbe im wesentlichen auf drei Arten, den Aal, der jedoch nur als Satzaal ( $\leq 35\text{cm}$ ) vermarktet werden darf, den Stint, der zum überwiegenden Teil nach Belgien und Frankreich exportiert wird und den Kabeljau, der jedoch nur in den Wintermonaten in das Elbeästuar eindringt. Insgesamt wurden die Gesamtanlandungen der letzten Jahre im Unterelbebereich auf nur mehr 100-

120 t pro Jahr geschätzt (Möller 1988).

Die Unterelbe ist geprägt durch die seit Beginn des Jahrhunderts begonnenen wasserbaulichen Maßnahmen, die einerseits den Anschluß Hamburgs an die internationale Schifffahrt sichern und auf der anderen Seite den Hochwasserschutz gewährleisten sollen.

So wurde das Fahrwasser bereits vor dem 2. Weltkrieg auf 10 m Tiefe ausgebaggert und 1978 auf 13,5m vertieft. Nach der Sturmflutkatastrophe von 1962 wurden die Eindeichungsmaßnahmen von Elbwatten und -marschen forciert. Eine Reihe von Zuflüssen wurde durch Sperrwerke vor Sturmfluten gesichert (z.B. Schwinge und Bützflether Süderelbe 1971, Stör 1975).

Insgesamt haben die umfangreichen anthropogenen Eingriffe in der Unterelbe seit Beginn dieses Jahrhunderts zu einer deutlichen Verringerung der für die Ausbildung typischer Gemeinschaften notwendigen Lebensräume wie tidebeeinflusste Priel- und Marschgräben, Wattengebiete, Flachwasserzonen und Nebengewässer geführt. Heute wird erwogen, den Erhalt der Artenvielfalt und -häufigkeit durch die Schaffung neuer Stillwasserzonen z.B. in Altarmen, Nebelnelben und durch Ausbaggern von Bühnenfeldern zu unterstützen (ARGE Elbe 1991).

### **2.1.2 Das Untersuchungsgebiet Untereider**

Auch das Flußgebiet der Eider hat im Laufe der vergangenen Jahrhunderte durchgreifende Veränderungen erfahren. Im ursprünglichen Zustand reichte das Einzugsgebiet der Eider östlich bis nahe an die Kieler Förde, im Norden bis in die Nähe von Flensburg und im Süden bis nahe Neumünster. Mehr als 50 Seen gab es im Einzugsgebiet der Eider. Durch den Bau des Nord-Ostsee-Kanals (1888-1895) wurde die Obereider von ihrem Unterlauf abgetrennt und gehört heute zum Einzugsgebiet des Nord-Ostsee-Kanals. Auch mehrere linksseitige Nebenflüsse der Eider wie Wehrau, Jevenau, Luhnau, Haaler Au, Hanerau und Giselau gehören heute größtenteils zum Einzugsgebiet des Kanals.

Die Eider ist ein Gewässer 1. Ordnung. Durch die Eiderabdämmung bei Nordfeld (1934-1936) wurde die Tidegrenze von Rendsburg nach Nordfeld verlegt. Dadurch wurde die Wasserstandsregulierung zur Einhaltung einer Mindesttiefe für die Schifffahrt des zwischen Giselausleuse und Nordfeld gelegenen Abschnitts der Binneneider möglich. Aufgrund des hohen Wasserstandes können heute jedoch die meisten einmündenden Gewässer nur über Schöpfwerke künstlich in die Eider entwässern. Lediglich die Treene, neben der Sorge der bedeutendste Nebenfluß, wird über ein Siel bei Friedrichstadt entwässert.

Das Untersuchungsgebiet, die tidebeeinflusste Untereider, hat heute nur noch eine Länge von ca. 30 km. Die Errichtung des Eidersperrwerks in der Mündung (1973) dient als Schutzmaßnahme und der Wasserstandsregelung. Normalerweise schwingt die Tide ungehindert ein und aus. Nur in Sonderfällen wie bei Sturmfluten, Entwässerungsschwierigkeiten und bei Eisgang wird das Sperrwerk geschlossen.

Durch die Abdämmung bei Nordfeld kommt es aufgrund der fehlenden Spülwirkung durch den Fluß zur vermehrten Versandung und Verschlickung des oberen Abschnitts der Tideeider zwischen Tönning und Nordfeld. Um dieser Entwicklung entgegenzuwirken, wird das Siel bei Neufeld während der Sommermonate in regelmäßigen Abständen geöffnet.

Aufgrund der vergleichsweise geringen Abflußmengen können in Höhe von Tönning noch Salzgehalte bis zu 20

$\times 10^{-3}$  gefunden werden, etwas weiter flüßaufwärts nimmt dann der Salzgehalt schlagartig ab. Bei geschlossenem Eidersperrwerk kommt es zu einer Aussüßung im Bereich zwischen Tönning und Sperrwerk. Wie in der Tideelbe ändert sich die Zusammensetzung der Fischfauna auch in der Tideeider in Abhängigkeit vom Salzgehalt. Euryhaline Arten wie Flunder und Stint überwiegen und treten -wie auch der Aal- im gesamten Bereich der Tideeider auf. Im oberen Abschnitt sind Stichling (*Gasterosteus aculeatus*), Brassen (*Abramis brama*), Güster (*Blicca björkna*) und Zander (*Stizostedion lucioperca*) vertreten. Im Bereich des Sperrwerks und in der Außeneider treten vermehrt Scholle (*Pleuronectes platessa*), Kliesche (*Limanda limanda*), Seeszunge (*Solea solea*), Kabeljau (*Gadus morhua*), Wittling (*Merlangius merlangus*), aber auch Arten wie Seeskorpion (*Myoxocephalus scorpius*), Steinpicker (*Agonus cataphractus*), Grundel (*Gobius niger*), Aalmutter (*Zoarces viviparus*) und Quappe (*Lota lota*) auf. Die kommerzielle Fischerei beschränkt sich heute auf die Garnelenfischerei in der Außeneider.

## 2.2 Felduntersuchungen

Mit Hilfe von Felduntersuchungen sollten die in den Fischfaunen beider Flußabschnitte auftretenden bakteriellen Krankheiten, deren regionale und saisonale Prävalenzen festgestellt und ihre Ätiologien untersucht werden. Dazu wurden Wunden, Blut und Darminhalte von Fischen sowie Wasser- und Sedimentproben auf die Präsenz obligat oder fakultativ fischpathogener Bakterien hin untersucht.

Weitere mikrobiologische Parameter wurden ermittelt, um Aufschluß über die organische Belastung des jeweiligen Gewässerabschnitts zu erhalten und mögliche Korrelationen zwischen organischer Belastung, der Dichte verschiedener Bakteriengruppen und dem Auftreten der festgestellten Befallsraten zu untersuchen. Ebenso wurden hydrographische und -chemische Parameter bestimmt, um entsprechende Zusammenhänge feststellen zu können.

### 2.2.1 Stationsplan und Probennahme

Die Beprobung erfolgte über einen Zeitraum von 14 Monaten in monatlichen Abständen. Einige Termine konnten aufgrund von Schleusenreparaturen in der Eider sowie fehlender Schiffszeiten nicht wahrgenommen werden. Des weiteren wurden einige Stationen aufgrund der schlechten Wetterbedingungen nicht angelaufen. Die durchgeführten Ausfahrten sind im einzelnen der Tabelle 2.1 zu entnehmen.

Insgesamt wurden 14 Stationen, 6 Elbe- und 8 Eiderstationen, beprobt (siehe Abb. 2.1), mit denen Brack- und Süßwasserbereiche beider Flußabschnitte abgedeckt wurden. Die Positionsangaben der Schleppstrecken können der Tab. 2.2 entnommen werden.

Die Eiderstationen 1-5 wurden auch im Rahmen des UBA - Projektes "Fischkrankheiten im Wattenmeer" (UBA-FB 102 04 373, Umweltbundesamt Berlin) beprobt. Im Winterhalbjahr 1989 konnten hier Mitfahrgelegenheiten auf gecharterten kommerziellen Garnelenkuttern genutzt werden, um die Beprobung durchzuführen. Für 1990 stand die Forschungsbarkasse "Sagitta" für die Eideruntersuchungen zur Verfügung. In diesem Zeitraum konnten zusätzlich auch die zwischen Tönning und Friedrichstadt gelegenen Stationen II

und III befischt werden. Die weiter stromaufwärts in Höhe der Schleuse "Lex Fähre" gelegene Station I (54 13,40 N 9 26.55 E) wurde über den gesamten Untersuchungszeitraum nur von Land aus beprobt.

**Tab. 2.1** Beprobungsplan: Probennahmetage, -gebiete und -stationen; \* = Stationen, die nicht befischt wurden

Datum	Untersuchungsgebiet	beprobte Stationen
26.6.89	Eider	1, 2, 3
18/19.7.89	Elbe	1, 2, 5, 6, 7
26.7.89	Eider	1, 2, 3, 4, 5
1.8.89	Eider	I*, II*, III*
22.8.89	Eider	1, 2, 3, 4, 5
23.8.89	Elbe	1, 2, 5, 6, 7
30.8.89	Eider	I*, II*, III*
25/26.9.89	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
24/25.10.89	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
23.10.89	Eider	I*, II*, III*
27.10.89	Eider	1, 2, 3, 4, 5
23.11.89	Eider	I*, II*, III*
24.11.89	Eider	1, 2, 3, 4, 5
28/29.11.89	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
9/10.1.90	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
20/21.2.90	Eider	II, III, 1, 2, 3, 4, 5
5/6. 3.90	Elbe	3, 5, 6, 7
20/21.3.90	Eider	I*, II, III, 1, 2, 3, 4, 5
3/4. 4.90	Elbe	2, 3, 5, 6, 7
18/19.4.90	Eider	I*, II, III, 1, 2, 3, 4, 5
5/6. 5.90	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
30/31.5.90	Eider	I*, II, III, 1, 2, 3, 4, 5
13/14.6.90	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
27/28.6.90	Eider	I*, II, III, 1, 2, 3, 4, 5
11/12.7.90	Elbe	1, 2, 3, 5, 6, 7
18/19.7.90	Eider	I*, II, III, 1, 2, 3, 4, 5

Die Durchführung der Felduntersuchungen auf den Elbestationen 1-7 erfolgte ausschließlich mit FB "Sagitta". Zusätzlich konnten weitere Wasserproben, die an den Elbestationen I (Lauenburg), IV (Krümmel) und VI (Geesthacht) durch die Abteilung "Marine Mikrobiologie" (IfM Kiel) routinemäßig auf hydrographische, -chemische und verschiedene mikrobiologische Parameter hin untersucht wurden, für eigene bakteriologische Arbeiten zu Vergleichszwecken mitherangezogen werden.

Auf allen befischten Stationen wurden halbstündige Hols mit einer Schleppgeschwindigkeit von 2-3 kn durchgeführt. In der Regel wurde gegen den Strom geschleppt. Dabei kamen auf den gecharterten Kuttern die kommerziellen Garnelenkurren, auf FB "Sagitta" eine 3 m breite, 0,8 m hohe Baumkurre mit 1 cm Maschenweite in der Netzöffnung und 0,5 cm Maschenweite im Steert zum Einsatz.

Tab. 2.2: Positionsangaben der Schleppstrecken

Elbestationen			Eiderstationen		
Stationsnummer	Aussetz- und Einholposit.		Stationsnummer	Aussetz- und Einholposit.	
1 "Cuxhaven"	53 52.66 N	8 43.74 E	II "Friedrichstadt"	54 21.86 N	9 03.87 E
	53 53.73 N	8 42.75 E		54 22.43 N	9 01 95 E
2 "Neufeld"	53 51.69 N	8 57.19 E	III	54 21.78 N	8 59.10 E
	53 52.01 N	9 00.37 E		54 20.38 N	8 59.82 E
3 "Freiburg"	53 52.12 N	9 15.38 E	1 "Tönning"	54 18.34 N	8 56.13 E
	53 51.70 N	9 16.97 E		54 16.82 N	8 55.70 E
5 "Pagensand"	53 43.55 N	9 28.68 E	2 "Eidersperrwerk"	54 15.76 N	8 52.88 E
	53 42.92 N	9 30.30 E		54 15.80 N	8 52.34 E
6 "Stade"	53 37.03 N	9 32.61 E	3	54 15.94 N	8 49.68 E
	53 36.26 N	9 34.18 E		54 15.57 N	8 46.99 E
7 "Mühlenbergerloch"	53 32.63 N	9 48.22 E	4	54 16.19 N	8 43.18 E
	53 32.42 N	9 48.78 E		54 14.99 N	8 41.69 E
			5	54 13.46 N	8 38.95 E
				54 13.54 N	8 36.21 E

Der Fang wurde nach Arten sortiert und vermessen (unterer cm), das Auftreten von Geschwüren und Flossenfäule registriert.

Die für weitere bakteriologische Untersuchungen aussortierten, erkrankten Tiere wurden zwischenzeitlich gehältert, um eine mögliche postmortale Veränderung der Bakterienzusammensetzung in den Läsionen und im Blut bis zum Zeitpunkt der Untersuchung auszuschließen.

Am Ende eines jeden Schleppstrichs wurden Temperatur- und Salzgehaltsvertikalprofile (Messungen in 2 m-Abständen) mit Hilfe einer TS-Sonde (WTW Conductometer LF 191) und Sauerstoffprofile unter Verwendung einer O<sub>2</sub>-Sonde (WTW Microprozessor OXI-Meter 196) erstellt, sowie stichprobenartig pH-Werte mit einer pH-Sonde (WTW pH-Meter 191) gemessen.

Sterile Wasserproben wurden jeweils 2 m über Grund mit einem ZoBell-Schöpfer genommen. Für die Bestimmung der Gesamtbakterienzahl (GBZ) erfolgte die Fixierung von je 100 ml Probenwasser mit 2 ml 30 %-Formaldehyd. Zur Bestimmung der Saprophytenzahl und der Anzahl potentiell fischpathogener Bakterien (s. 2.2.3) wurden Wasserproben in sterilem Brackwasser mit einem Salzgehalt von  $8 \times 10^{-3}$  1:10 und 1:100 verdünnt.

Zur späteren Bestimmung von NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub> und NO<sub>2</sub> im Labor wurden Wasserproben eingefroren. Nach Untersuchungen von Kremling und Wenk (1986) kann dabei davon ausgegangen werden, daß durch den Einfriervorgang keine signifikanten Änderungen der NH<sub>4</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> und NO<sub>2</sub>-Konzentrationen eintreten. Die Messung dieser Parameter erfolgte nach den bei Graßhoff et al. (1983) beschriebenen Methoden.

Zur Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB<sub>7</sub>) erfolgte ein luftblasenfreies Abfüllen der Proben in Glasflaschen. Die im Labor durchgeführte Bestimmung der BSB<sub>7</sub>-Werte erfolgte nach der DIN 38409 (Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung 1987). Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes wurde dabei iodometrisch nach Winkler (DIN 38408 Teil 21, 1984) bestimmt. Zur Isolierung potentiell fischpathogener Bakterien aus dem Sediment des Untersuchungsgebietes wurden Bodenproben mit einem "van Veen-Greifer" genommen und je 2 cm<sup>3</sup> Oberflächensediment in 100 ml sterilem Brackwasser suspendiert.

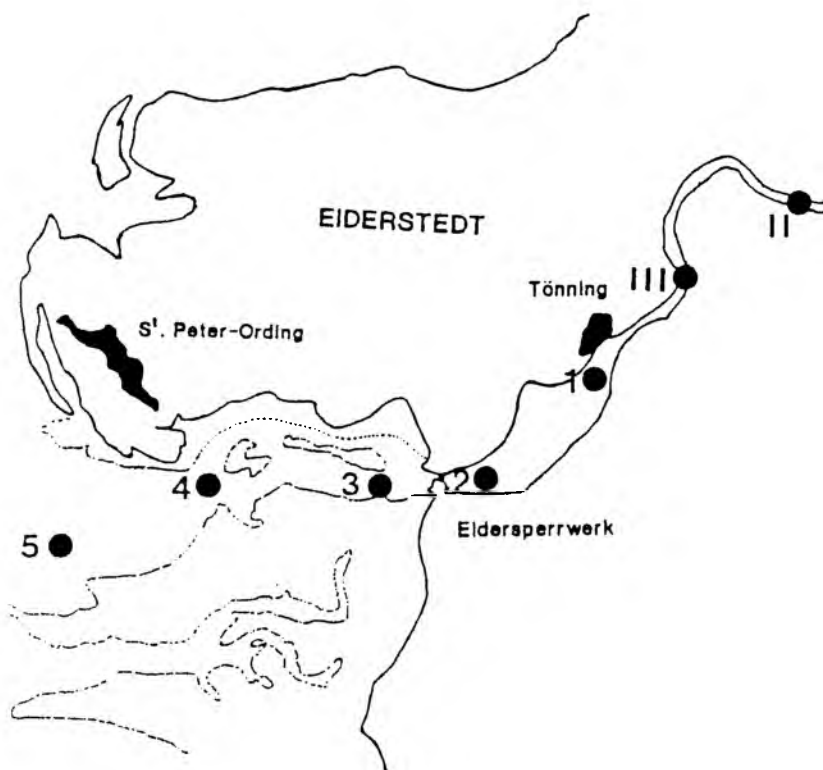




Abb. 2.1 a) Stationsplan der Untereider

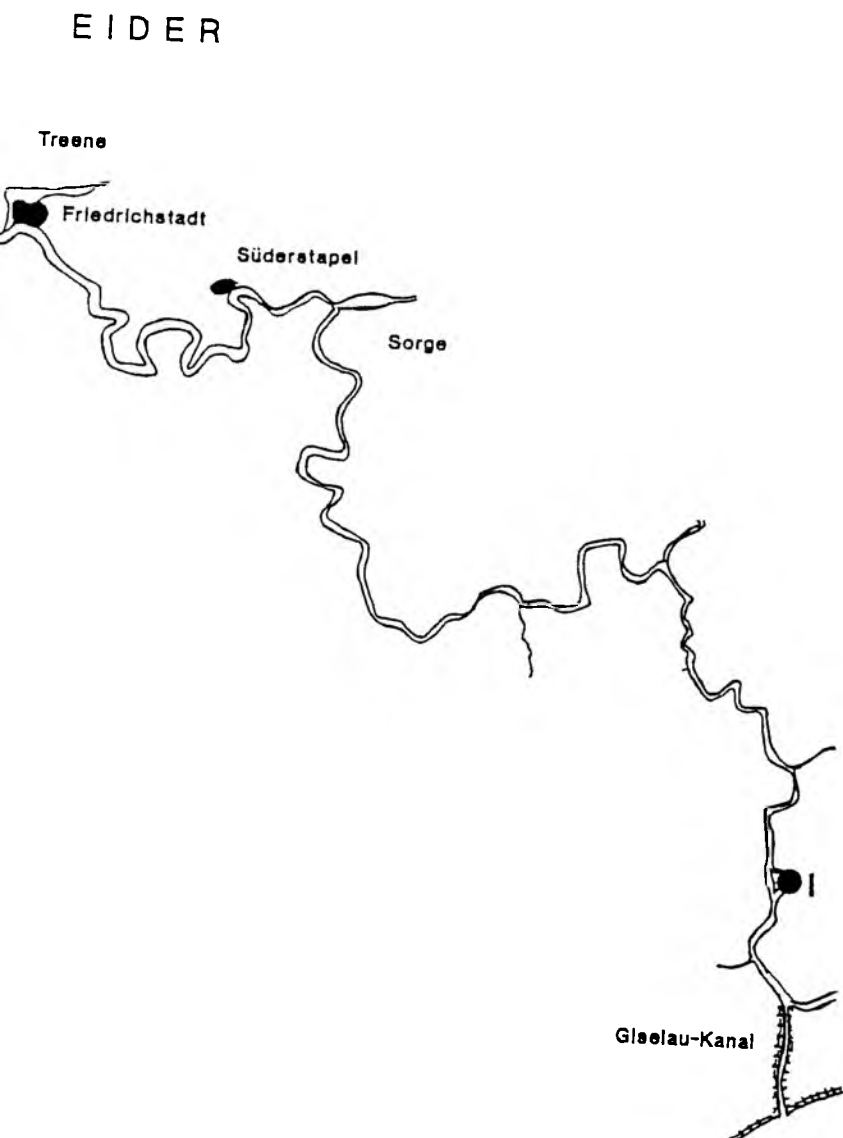
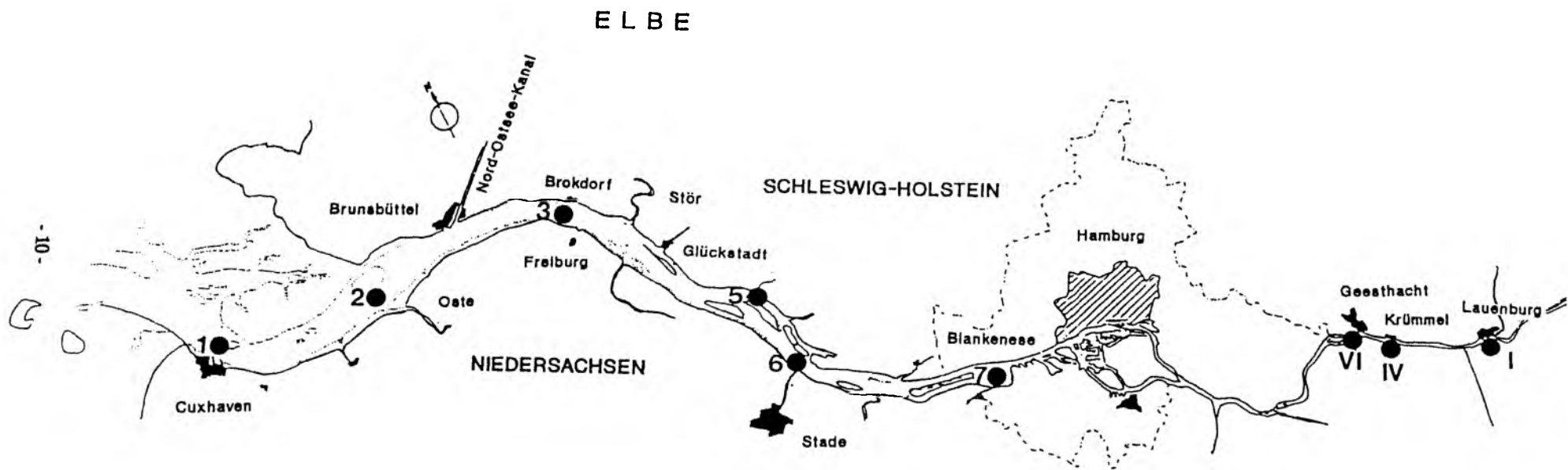


Abb. 2.1  
b) Stationsplan  
der Untereibe



## 2.3 Bakteriologische Untersuchungen

### 2.3.1 Monatliche Eider- und Elbeproben

Das Ansetzen der Wasser- und Sedimentproben zur Bestimmung bakteriologischer Parameter erfolgte bereits an Bord.

Bei der Ermittlung der Saprophytenzahlen, der Gesamtbakterienzahlen und der Anzahl fischpathogener Bakterien konnte hinsichtlich der Wahl der Methoden, Medien und Verdünnungen weitestgehend auf die Erfahrungen vorheriger Untersuchungen (Ullrich 1989) zurückgegriffen werden.

Die Bestimmung der Saprophytenzahlen (Koloniezahlen) erfolgte auf ZoBell-Agar (ZoBell 1946). Dazu wurden 0,2 ml einer 1:100-Verdünnung (Endverdünnung = 1:500) auf ZL- (ZoBell-Leitungswasser-Medium) und ZB- (ZoBell-Brackwasser-Medium) Agarplatten ausgespatelt und die Koloniezahlen/ml (CFU = colony forming units) nach einwöchiger und zweiwöchiger Inkubation (25 °C) ermittelt.

Die Bestimmung der Gesamtbakterienzahlen (GBZ) erfolgte fluoreszenzmikroskopisch nach der AODC (acridine orange direct count)-Methode (Zimmermann 1977) (Acridinorange, Merck Nr. 1333). Dazu wurden jeweils 0,5 ml fixierter Wasserprobe durch 0,2 µm Nuclepore-Filter filtriert. Die Auszählung erfolgte unter Zuhilfenahme eines Epifluoreszenzmikroskops (Zeiss, Standard kombiniert mit Fluoreszenz-Auflichtkondensor IVFI, 1200 x Vergrößerung).

Zur Bestimmung der Anzahl potentiell fischpathogener Keime im Wasser wurde eine 1:10-Verdünnung gewählt, die routinemäßig entsprechend den oben gemachten Angaben auf folgende Selektivmedien ausgespatelt wurde:

-BTB-Teepol Agar, ein ursprünglich zur Isolierung von *Vibrio parahaemolyticus* entwickeltes Medium (Akiyama et al. 1963), das sich auch zur Anzucht anderer mariner *Vibrio*-Species wie z.B. *Vibrio anguillarum* eignet (Sakazaki & Balows 1981);

-Tryptose-Soy-Agar (TSA), ein generell zur Anzucht vieler, auch anspruchsvoller Mikroorganismen geeignetes Medium (United States Pharmacopeia 1985), das bei diesen Untersuchungen zur Anzucht von *Aeromonas* und *Vibrio* verwendet wurde;

-Cetrimid- (=Pseudosel-) Agar, ein Medium, das durch Cetrimid (N-cetyl-N,N,N-trimethylaminobromid, Merck Nr. 2342) gewöhnlich alle Bakterien bis auf *Pseudomonas* hemmt (modifiziert nach Brown & Lowbury 1965).

Die Auszählung erfolgte nach einwöchiger Inkubation (25 °C). Zur weiteren taxonomischen Bestimmung wurden typische Kolonien zur Reinigung subkultiviert und in Tryptose-Soy-Flüssigmedium (TSB) abgeimpft. Die Zusammensetzung der verwendeten Medien ist der Tabelle 2.3.1 zu entnehmen.

Entsprechend erfolgte das Auspateln der Sedimentsuspensionen (s. 2.2.2).

Läsionen erkrankter Fische entnommenes Material wurde auf die Selektivmedien ausgestrichen. Entsprechend erfolgte auch die Verarbeitung von Blutproben. Dazu wurde vorher getöteten Tieren Blut aus der Schwanzvene entnommen.

Die weitere taxonomische Zuordnung der Reinkulturen erfolgte gemäß dem Bestimmungsschlüssel für gramnegative, fischpathogene Bakterien nach Bullock (1971), der durch Angaben aus Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) und Austin & Austin (1987) ergänzt wurde (Abb. 2.2).

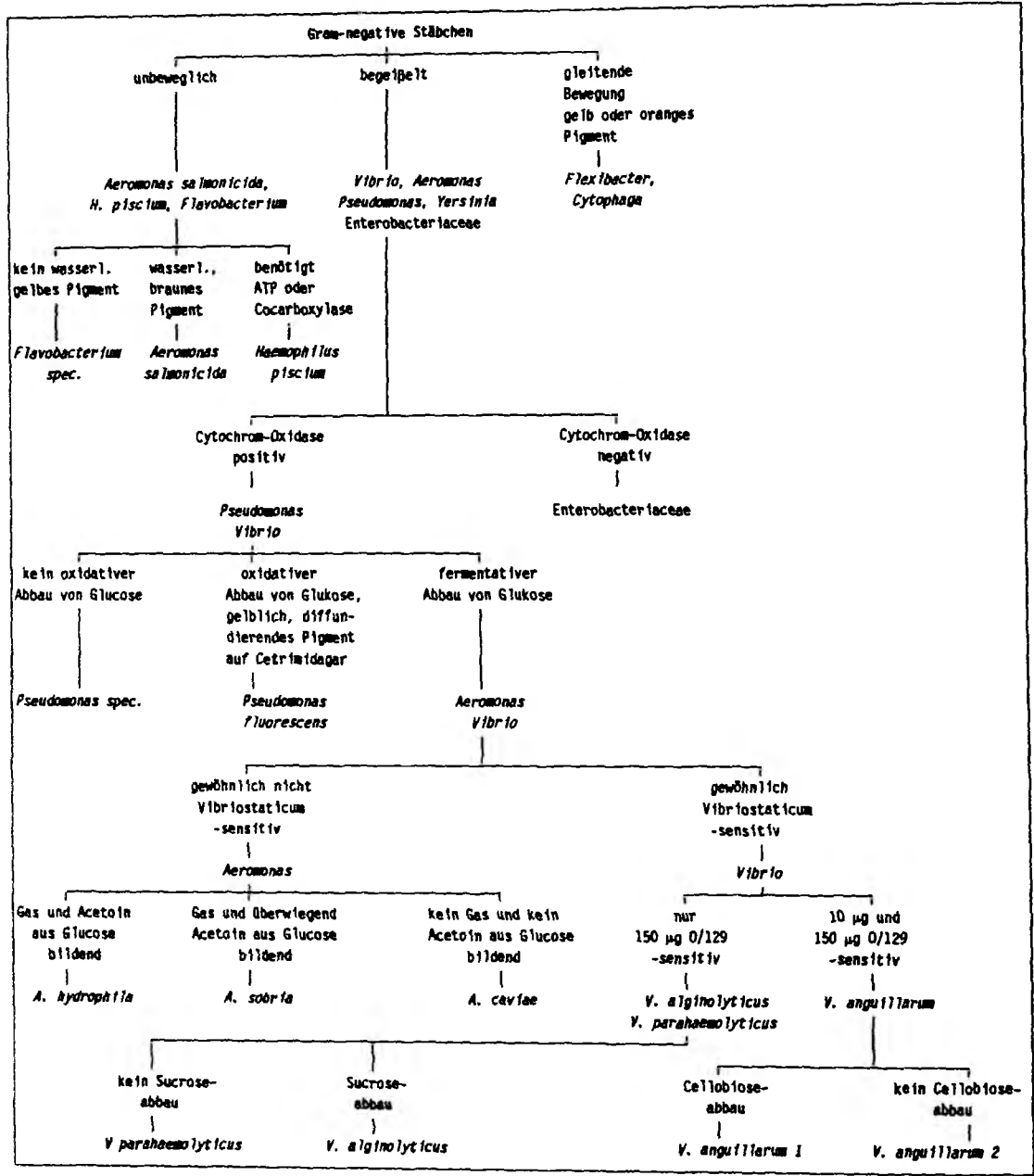


Abb. 2.2 Schlüssel zur Bestimmung gramnegativer, fischpathogener Bakterien nach Bullock (1971), ergänzt nach Bergey's Manual (1984) und Austin & Austin (1987)

Die morphologischen und biochemischen Charakteristika der untersuchten Stämme wurden im einzelnen mit folgenden Tests untersucht:

Gram-Färbung erfolgte mit Hilfe eines Färbekits (bio Mérieux). Morphologie und Beweglichkeit wurden lichtmikroskopisch ermittelt, das Vorhandensein von Cytochrom-Oxidase nach Kovacs (1956) mit N,N-

Dimethyl-1,4-phenylendiammoniumdichlorid (Merck Nr. 3067), bzw. N,N,N',N'-Tetramethyl-1H-phenylendiammoniumdichlorid (Merck Nr. 821102) für pigmentierte Stämme getestet.

Der Abbau verschiedener Kohlenhydrate (Glukose, Cellobiose, Sucrose) wurde durch Zugabe von je 10 g des entsprechenden Kohlenhydrats zum MOF-Medium ("marine oxidation fermentation medium" nach Leifson (1963), unter Verwendung von verdünntem, gealtertem Atlantikwasser (Salzgehalt  $8 \times 10^{-3}$ )) überprüft. Um den fermentativen Abbau von Glukose feststellen zu können, wurden beimpfte Röhrchen mit sterilem Paraffin überschichtet. Die Überprüfung auf Gasproduktion erfolgte mit Hilfe von Durham-Röhrchen. Zum Nachweis der Acetoinbildung aus Glukose wurde das Medium nach Pfister und Burkholder (1965) verwendet (Voges-Proskauer Reaktion). Die Differenzierung von *Aeromonas* und *Vibrio* erfolgte mit Hilfe des Vibriostaticums O/129 (2,4-Diamino-6,7-diisopropylpteridin Phosphatsalz). *Vibrio* wird in der Regel inhibiert, *Aeromonas* ist resistent.

Die Sensitivität der untersuchten Stämme wurde durch Auflegen von "Sensi discs" verschiedener O/129-Konzentrationen (Oxoid Nr. DD14 (10 µg) und Nr. DD15 (150 µg)) auf beimpfte TS-Agarplatten nach 3 Tagen Inkubationszeit bei 25 °C anhand der Ausbildung von Hemmhöfen festgestellt.

Zusätzlich wurde getestet, ob die O/129-positiven Stämme auf dem TCBS-Agar (thiosulfate-citrate-bile salt-sucrose agar, *Vibrio*-Selektivmedium, Merck Nr.10263 (s. Tab. 2.3)) nach Kobayashi et al. (1963) wuchsen.

**Tab. 2.3** Zusammensetzung der zur Anzucht verwendeten Medien (z. T. ohne Agar auch als Flüssigmedien verwendet), BW = Brackwasser (verdünntes, gealtertes Atlantikwasser (Salzgehalt  $8 \times 10^{-3}$ )), LW = Leitungswasser, A. dest. = destilliertes Wasser, Angaben in Gramm (g)

Medium/ Komponente	ZoBell (g)	TCBS (g)	Teepol (g)	TSA (g)	Cetrimid (g)	Blutagar (g)
Bacto Pepton	5,0		10,0		20,0	
Hefeextrakt	1,0	5,0				3,0
Pepton aus Casein		5,0		15,0		12,0
Pepton aus Sojamehl				5,0		
Pepton aus Fleisch		5,0				5,0
Fleischextrakt			5,0			3,0
Maisstärke						1,0
Saccharose		20,0	10,0			
Ochsengalle		5,0				
Schafsblut						5%
Cetrimid					0,3	
Thymolblau		0,04	0,08			
Bromthymolblau		0,04				
MgCl <sub>2</sub>					1,4	
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>		10,0				
Fe-III-citrat		1,0				
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		10,0				
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					10,0	
Na-cholat		3,0				
NaCl		10,0	20,0	5,0		5,0
Glycerin					10ml	
Agar	15,0	14,0	15,0	15,0	13,0	13,5
gelöst in 1l	LW, BW	A. dest.	A. dest.	A. dest.	A. dest.	A. dest.
pH	7,2	8,8	7,8	7,3	7,2	7,3

Dieses ehemals zum Nachweis von *Vibrio cholerae* entwickelte Medium eignet sich auch zur Anzucht anderer mariner *Vibrio*-Species wie *Vibrio alginolyticus* und *V. parahaemolyticus* (Mc Coormack et al. 1974, Sakazaki & Balows 1981). Durch den hohen pH-Wert und die Ochsen-galle im Medium wird die Begleitflora weitestgehend gehemmt. Literaturangaben zur Folge gibt es jedoch auch *Vibrio anguillarum*-Stämme, die durch dieses Medium inhibiert werden (Sakazaki & Balows 1981). In eigenen Versuchen wuchsen vorkultivierte *Vibrio anguillarum*-Stämme selbst bei einer Inkubationstemperatur von 25 ° C nur sehr langsam (Ullrich 1989) oder gar nicht. Einige *Aeromonas*-Stämme hingegen zeigten unter gleichen Konditionen gutes Wachstum.

Um die Testergebnisse zu überprüfen, wurde zusätzlich eine Differenzierung charakteristischer Stämme mit Hilfe des API 20E - Systems (bio Mérieux) durchgeführt. Dieses für die Humanmedizin entwickelte Diagnosekit findet heute auch vielfach Anwendung in der Fischpathologie. Da in den von der Herstellerfirma herausgegebenen Identifikations-tabelle nur ein Teil der für die Fischpathologie relevanten Bakterienarten berücksichtigt wird, erfolgte die taxonomische Zuordnung nach speziell für die Diagnose fischpathogener Bakterien entworfenen Auswertetabellen (Austin & Austin 1987, Grisez et al. 1990).

Neben der anhand biochemischer Testverfahren erfolgten Differenzierung wurde auch versucht, einen serologischen Erregernachweis mit Hilfe von Antiseren durchzuführen. Beim Nachweis von Viren spielt die serologische Diagnostik eine entscheidende Rolle, und auch bei der Diagnose bakterieller Infektionskrankheiten ebenso wie in der allgemeinen Bakteriensystematik sind Antiseren häufig verwendete Hilfsmittel. Hohe Erregerspezifität vorausgesetzt, kann mit dieser Methode ein gegenüber biochemischen Testverfahren sicherer und schnellerer Erregernachweis erfolgen.

Im einzelnen wurde für einen *Aeromonas hydrophila* -Stamm, der aus einer geschwürkranken Flunder isoliert wurde, ein Kaninchenantiserum nach der in der Immunologie üblichen Methode hergestellt (Süßmuth 1987). Als Antigen wurden mit Formol abgetötete Bakterien injiziert.

Zur Überprüfung der Spezifität des hergestellten polyklonalen Antikörpers erfolgten Agglutinationstests mit verschiedenen aus dem Feld isolierten Stämmen und Laborstämmen.

### 2.3.2 Intestinalflora von Flundern und Klieschen

Um auch die Darmflora von Fischen auf die Präsenz fischpathogener Bakterienarten zu untersuchen und um festzustellen, inwieweit sie von der umgebenden Bakterienflora beeinflusst wird, wurden jeweils 3 Flundern bzw. Klieschen an drei auseinandergelegenen, im Salzgehalt differierenden Eiderstationen (II, 2 und 4) entnommen und die Darminhalte entsprechend den bei Yoshimizu & Kimura (1976) gemachten Angaben auf die bakterielle Zusammensetzung hin untersucht. Dabei fanden nur Fische Verwendung, die äußerlich keine Krankheitserscheinungen aufwiesen.

Der Transport der Tiere zum Labor erfolgte in sterilen Beuteln und unter kühler Lagerung. Nach Vermessung und Desinfektion der Fischoberfläche wurden die Darminhalte zwischen Pylorus und Anus aseptisch entnommen, gewogen, in 19 Gewichtsanteilen sterilem Aqua dest. suspendiert und in 10er Schritten ( $10^1$  -  $10^{-3}$ ) verdünnt. Zur Anzucht von Bakterien erfolgte das Ausspateln von je 0,2 ml jeder Verdünnungsstufe auf

FW- (fresh water) und SW- (sea water)-Agarplatten (jeweils 2 Parallelen). Nach 5 Tagen Inkubationszeit bei einer Temperatur von 25 °C wurden die CFU x ml<sup>-1</sup> ermittelt und auf 1 g Darminhalt umgerechnet (s. Tab. 2.4).

Zur weiteren Differenzierung erfolgte die Subkultivierung von je 30 Kolonien eines ausgewählten Sektors dreier FW-Platten. Entsprechend wurde für die Stationen 2 und 4 verfahren, die Kolonien hier jedoch von SW-Platten abgeimpft. Die Differenzierung der insgesamt 270 Isolate (90 pro Station) bis zur Gattungsebene bzw. Familienebene (Enterobacteriaceen) erfolgte anhand folgender Charakteristika (Schlüssel nach Shewan et al. 1960): Gram-Färbung, Kolonie-Pigmentierung, Zell-Morphologie, Beweglichkeit durch Geißeln, Cytochrom-oxidase, OF-Metabolismus, Gasbildung aus Glukose, Wachstum mit und ohne NaCl, O/129-Sensitivität.

**Tab. 2.4** Zusammensetzung des "fresh water agar" (FWA) und "sea water agar" (SWA) nach Yoshimizu & Kimura (1976), Angaben in Gramm (g)

	FWA (g)	SWA (g)
Pepton	5,0	5,0
Fleischextrakt	2,5	2,5
Hefeextrakt	2,5	2,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2	0,2
MgSO <sub>4</sub>	0,05	-
Glukose	1,0	1,0
NaCl	5,0	-
Agar	15,0	15,0
Seewasser (32‰)	-	750 ml
Aqua dest.	1000 ml	250 ml
pH	7,5	7,8

### 2.3.3 Untersuchungen an erkrankten Kabeljaus

Im Zusammenhang mit den im Rahmen des UBA Projektes "Fischkrankheiten im Wattenmeer" (Forschungsforhaben Wasser 10204373101) zwischen 1987 und 1989 durchgeführten Untersuchungen in den Ästuaren von Ems, Weser, Elbe und Eider sowie im nordfriesischem Wattenmeer wurde erstmals eine bisher nicht bekannte Krankheitsform beim atlantischen Kabeljau (*Gadus morhua*) festgestellt (Anders & Möller 1989). Epidemiologische Untersuchungen ergaben, daß diese auch als "Gelbe Pest" bezeichnete Kondition im Untersuchungsgebiet gehäuft im Bereich des Elbe- und Weserästuars ausschließlich bei juvenilen Tieren zwischen 11 cm und 21 cm und nur im Winter und Frühjahr auftrat (Anders & Möller 1989, Hilger 1990, Hilger et al. 1991).

Das Krankheitsbild ist durch die Ausbildung gelber Knötchen (1-2 mm im Durchmesser), die überwiegend im Maul- und Kiemenbereich auftreten, geprägt. Im Krankheitsverlauf wird das befallene Gewebe zunehmend nekrotisch, das angrenzende Gewebe zeigt deutliche Entzündungserscheinungen (Hilger et al. 1991).

Aufgrund des Krankheitsbildes wurde eine bakterielle Ätiologie vermutet und eine Reihe bakteriologischer

Untersuchungen zur Klärung der Ätiologie durchgeführt:

Von infizierten Geweben verschiedener Tiere wurden Abstrichpräparate hergestellt und für die Epifluoreszenzmikroskopie mit Acridinorange angefärbt. Zur Isolierung von Bakterien wurden aus den Läsionen eines erkrankten Tieres gelbe Knötchen steril entnommen. Die Kultivierung erfolgte in Cytophaga-Flußigmedium nach Pacha & Ordal (1967), angesetzt mit verdünntem, gealtertem Atlantikwasser (Salzgehalt  $20 \times 10^{-3}$ ). Nach 7 Tagen Inkubation bei Raumtemperatur wurden die gewachsenen Kulturen epifluoreszenzmikroskopisch wie unter 2.3.1 angegeben untersucht.

Zur Bestimmung der morphologischen und biochemischen Charakteristika des isolierten Stammes erfolgte die Durchführung folgender Tests:

Wachstum und Koloniepigmentierung auf Cytophaga-Agar, Motilität in SIM-Medium (s. Tabelle 2.5), Gram-Färbung, Cytochrom-Oxidase-Test, Lysin- und Ornithindecaboxylase-Test nach Moeller (1955), Abbau von verschiedenen Kohlenhydraten (Glukose, Rhamnose, Sucrose, Melibiose Arabinose) im MOF-Medium sowie Gasproduktion aus Glukose, Katalase-Test (Taylor & Achanzar 1972), Voges-Proskauer-Reaktion und Methylrot-Probe,  $H_2S$ -Produktion, KOH-(Nachweis von Flexirubinen) und Kongo-Rot-Test sowie die Bildung von Indol aus Tryptophan (Kovacs 1928). Des weiteren wurden die Hydrolyse von Casein, Gelatine, Tyrosin und Stärke (nach Angaben von Süßmuth et al. 1987), das Wachstum bei 5 °C, 35 °C und 40 °C sowie das Wachstum in unterschiedlich nährstoffreichen Nährlösungen (ZL-, ZB-, ZS-, Cytophaga-, Tryptose-Soy- und Marine-Flußigmedium (s. Tabelle 2.5) getestet.

**Tabelle 2.5** Medien, die für die im Zusammenhang mit der "Gelben Pest" durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen verwendet wurden: SW = verd. Seewasser (Salzgehalt  $20 \times 10^{-3}$ ), AD = Aqua dest., Angaben in Gramm (g)

Medium/ Komponente	Cytophaga (g)	Marine (g)	SIM (g)
Trypton	0,5	-	-
Pepton	-	10,0	-
Pepton aus Casein	-	-	20,0
Pepton aus Fleisch	-	-	6,0
Fleischextrakt	0,2	3,0	-
Hefeextrakt	0,5	3,0	-
$NH_4$ -citrat	-	-	0,2
NaCl	-	8,0	-
Na-acetat	0,2	-	-
$Na_2S_2O_3$	-	-	0,2
KCl	-	10,0	-
$MgSO_4$	-	3,0	-
$CaCl_2$	-	1,5	-
Agar	11,0	12,0	3,0
pH	7,2	7,5	7,2
gelöst in l	SW	AD	AD



Mit Hilfe von "Sensi-Discs" (BECTON DICKINSON) wurde die Sensitivität gegenüber folgenden Antibiotika und Konzentrationen ermittelt:

Neomycin (30 µg), Cephalotin (30 µg), Chloramphenicol (30 µg), Streptomycin (10 µg), Trimethoprim (125 µg), Gentamycin (10 µg), Kanamycin (30 µg), Ampicilin (30 µg), Tetracyclin (30 µg) und Erythromycin (15 µg).

Zu Vergleichszwecken konnten drei fischpathogene *Flexibacter*-Stämme, die freundlicherweise von Dr. J.-F. Bernadet (Jouy-en-Josas, Frankreich) zur Verfügung gestellt wurden, mitgetestet werden:

- *Flexibacter columnaris* (ATCC 49513), der Erreger der "Columnaris-Disease";
- *Cytophaga psychrophila* (NCIMB 1947), nach der neueren Nomenklatur (Bernadet & Grimont 1989) auch *Flexibacter psychrophilus*, der Erreger der "Coldwater"- oder "Peduncle Disease" bei Salmoniden;
- *Flexibacter maritimus* (NCIMB 2513), welcher bei juvenilen Fischen der Gattungen *Pagrus major* und *Acanthopagrus schlegelii* gelblich gefärbte, entzündete Läsionen im Maul- und Schwanzbereich sowie an den Flossen hervorruft und in den letzten Jahren zu hohen Verlusten in der japanischen Aquakultur führte (Masumura & Wakabayashi 1977, Wakabayashi et al. 1986).

Für alle biochemischen Tests wurden 24 Stunden alte Kulturen verwendet, die in *Cytophaga*-Nährlösung angezogen wurden.

Mit Hilfe einer "Temperaturorgel" wurde das Wachstum des isolierten Stammes in *Cytophaga*-Nährlösung in Abhängigkeit von der Temperatur zwischen 5 °C und 44 °C in 3 °C-Abständen getestet. Photometrisch erfolgte die Messung der Trübung (Corning, Colorimeter 252) bei 580 nm nach 90 Stunden Inkubation.

Um die Salzgehaltstoleranz des isolierten Stammes zu untersuchen, wurden Röhrchen mit *Cytophaga*-Nährlösung und unterschiedlicher Salinität (0, 5, 10, 20, 25 und 30 x 10<sup>-3</sup>) beimpft. Zum Einstellen der verschiedenen Salzgehalte diente entsprechend verdünntes, gealtertes Atlantikwasser. Das Wachstum wurde nach 50 Stunden Inkubation bei Zimmertemperatur entsprechend bei 580 nm photometrisch als Trübung ermittelt.

## 2.4. Simulationsexperimente

Um die Bedeutung einzelner Umweltparameter für das Auftreten bakterieller Fischkrankheiten zu untersuchen, war es notwendig, verschiedene Versuche durchzuführen. Da unter Feldbedingungen die Beurteilung einzelner Parameter aufgrund der Komplexität des Systems nicht möglich war, wurden diese Versuche in einem Hälterungssystem mit Flundern unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt.

Für die Versuche wurde ein temperaturkonstanter Raum des "Zentrallabors zur Kultivierung von Meeresorganismen" im Institut für Meereskunde genutzt. Der Aufbau der als Durchlaufsystem konzipierten Hälterungsanlage ist in Abbildung 2.3 dargestellt.

Die Versuchstiere wurden parallel in drei 100 l Versuchsaquarien gehältert, wobei das erste im sechsstündigen Rhythmus alternierend mit Brack- und Süß- (B1), das zweite mit Süß- (B2) und das dritte (B3) mit filtriertem Brackwasser betrieben wurde, um den Einfluß unterschiedlicher Salzgehalte zu untersuchen. Der

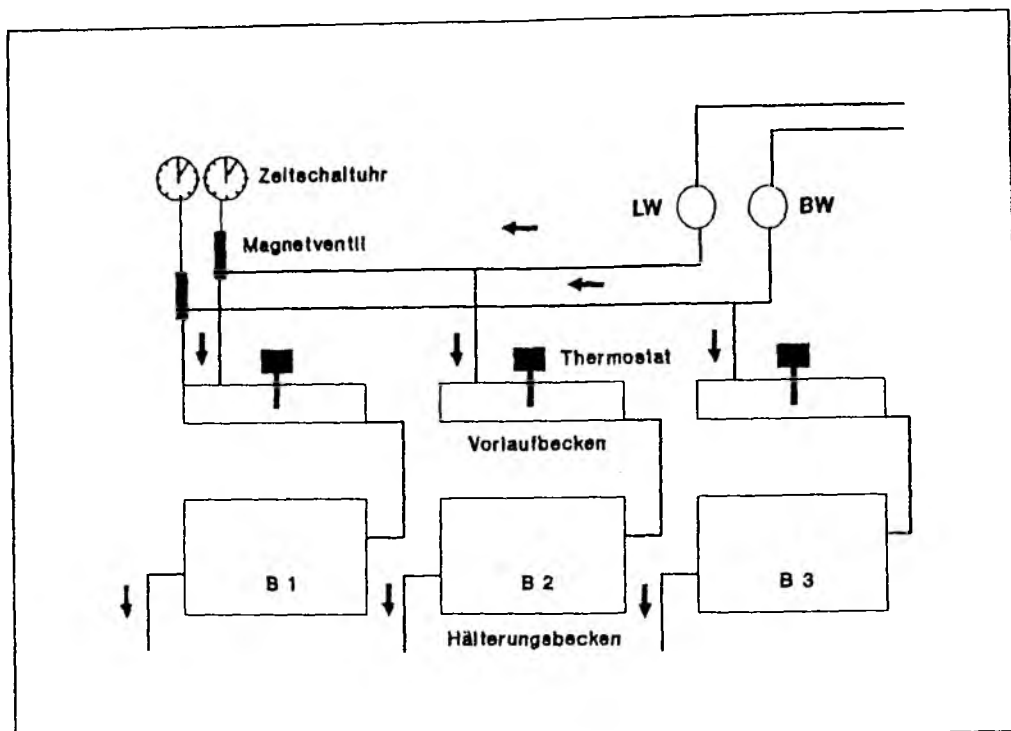


Abb. 2.3 Skizze der Hälterungsanlage: LW = Leitungswasser, BW = Brackwasser, B1 = Versuchsbecken, schwankende Salzgehalte, B2 = Versuchsbecken 2, Süßwasser, B3 = Versuchsbecken 3, Brackwasser

Wechselbetrieb zwischen Süß- und Brackwasser in B1 erfolgte mit Hilfe zweier, über mechanische Zeitschaltuhren (Grässlin Wa-EUF 929) gesteuerte Magnetventile (Conrad Nr. 630071-11). Die dadurch hervorgerufenen Salzgehaltsschwankungen wurden mit einer TS-Sonde (WTW Conductometer LF 191) kontrolliert und über einen angeschlossenen Plotter (BBC Servogor 460) aufgezeichnet. In der Abb. 2.4 sind diese Salinitätsfluktuationen für einen Zeitraum von 36 Stunden dargestellt.

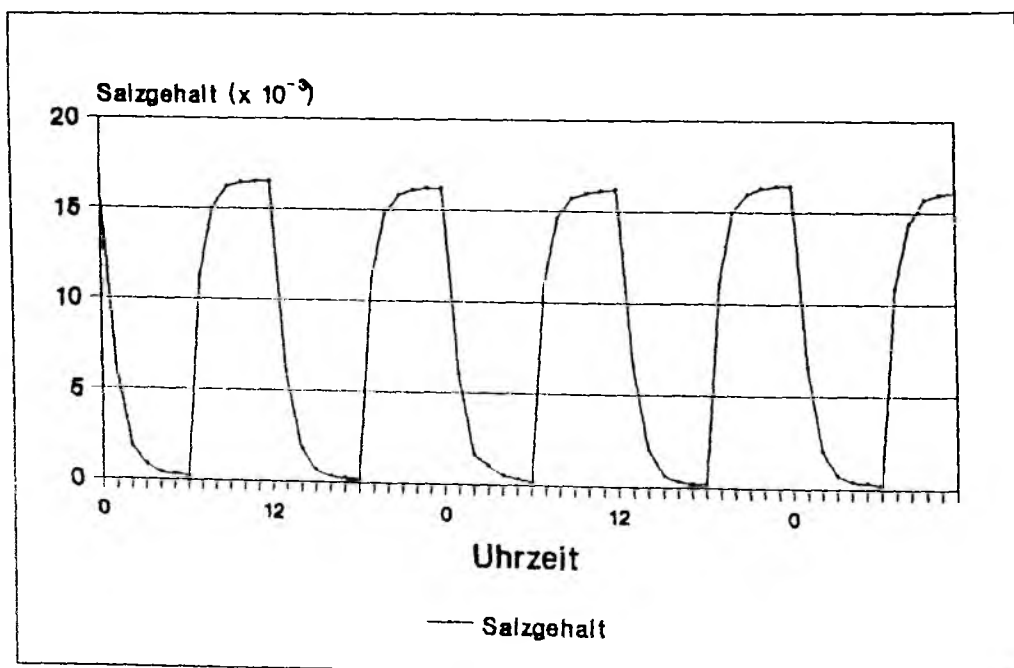


Abb. 2.4 Darstellung der im Versuchsbecken B1 erzeugten Salzgehaltsschwankungen

Die im 6-stündigen Rhythmus erzeugten Salzgehaltsschwankungen zwischen  $0,2$  und  $15,0 - 17,0 \times 10^{-3}$  entsprechen dabei ungefähr den in früheren Untersuchungen (Ullrich 1989) in der Elbe festgestellten maximalen Salzgehaltsschwankungen.

Das verwendete Brackwasser stammte direkt aus der Kieler Förde (die Brackwasserleitung des Institutes wird mit Wasser gespeist, das in Höhe der Institutspier angesaugt und durch ein Kiesbett filtriert wird). Während des Untersuchungszeitraumes schwankte der Salzgehalt zwischen  $13,6$  und  $18,0 \times 10^{-3}$ . Um die Tiere bei unterschiedlichen Temperaturen halten zu können, war den einzelnen Versuchsbecken je ein kleineres Vorlaufbecken (BV1, BV2 und BV3) vorgeschaltet, in dem das Wasser mit Hilfe eines Thermostaten (Julabo 5) den jeweiligen Versuchsbedingungen entsprechend temperiert werden konnte. Der Wasserdurchsatz durch jedes der drei Becken belief sich auf  $50 \text{ l/h}$ . Die Belüftung der Becken erfolgte mit Hilfe von Luftsteinen. Um störende Lichteffekte zu vermeiden, waren die Außenwände der verwendeten Glasaquarien mit schwarzer Folie abgedeckt.

Es wurden drei Versuchsserien durchgeführt, um den Einfluß von Salinität, Temperatur und organischer Belastung des Wassers zu untersuchen. Für jede Serie wurden die Becken mit jeweils zehn Elbflundern zwischen  $14$  und  $25 \text{ cm}$  Länge besetzt. Die auf einer Station in Höhe von Brunsbüttel gefangenen Tiere waren vor Beginn der Versuche mindestens  $14$  Tage an die Hälterungsbedingungen adaptiert worden. Damit sollte eine Verfälschung der Ergebnisse durch transportgeschädigte oder bereits infizierte Fische, die sich noch in der Inkubationszeit befanden, verhindert werden. Für diese Versuche wurden nur Fische verwendet, die nach Ablauf der Adaptationsphase keine äußerlich sichtbaren Krankheitserscheinungen aufwiesen. Die Fütterung der Tiere erfolgte in zweitägigen Abständen mit kleingeschnittenen, tiefgefrorenen Nordseegarnelen (*Crangon crangon*). Zwischen den Versuchsserien wurden die Becken gereinigt und mehrfach desinfiziert.

### 1. Versuchsserie

Ziel dieser Serie war es, die Bedeutung unterschiedlicher Temperaturen bei geringer organischer Belastung, unterschiedlichen Salzgehalten (s.o.) und sich ändernden Temperaturen zu untersuchen. Beginnend bei  $10^\circ\text{C}$  wurde die Temperatur in  $3^\circ\text{C}$ -Schritten bis auf  $19^\circ\text{C}$  erhöht, wobei zwischen den einzelnen Schritten jeweils eine dreiwöchige Inkubationszeit eingehalten wurde.

Um die organische Belastung in den Versuchsbecken gering zu halten, wurde kein Sediment in die Becken eingebracht, Faeces und Futterreste täglich entfernt. Wöchentlich einmal wurden Wasserproben entnommen, um hydrochemische ( $\text{O}_2$ , BSB<sub>7</sub>,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ) und bakteriologische Parameter (GBZ, Saprophytenzahl, Anzahl potentiell fischpathogener Erreger) zu ermitteln. Zum Vergleich erfolgte auch eine Beprobung der Vorlaufbecken. Täglich wurde das Auftreten von Krankheitserscheinungen wie Hautgeschwüren, Flossen- und Schwanzfäule sowie die Mortalität festgestellt. Aus Läsionen erkrankter Fische entnommenes Material und Blutproben wurden auf die verschiedenen Selektivmedien (s. o.) ausgestrichen. Die weitere Differenzierung der Isolate erfolgte gemäß den unter 2.2.3 gemachten Angaben.

## 2. Versuchsserie

Im Gegensatz zur 1. Versuchsserie sollte hier der Einfluß hoher organischer Belastung unter sonst gleichen Bedingungen untersucht werden. Dazu wurde eine Woche vor Einsatz der Fische in jedes Becken schlickig-sandiges Sediment in einer Schichtdicke von 1-2 cm eingebracht. Es handelte sich dabei um Eidersediment, das bei Ebbe in der Nähe des Fahrwassers im Katinger Watt bei Tönning genommen wurde.

Während der Versuchsserie erfolgte die Bestimmung bakteriologischer Parameter (GBZ, Saprophytenzahl, Anzahl potentiell fischpathogener Keime) im verwendeten Sedimente. Um Aufschluß über den durch die Fütterung erfolgten, zusätzlichen Eintrag von Bakterien zu erhalten, wurden die entsprechenden Bakteriendichten auch im Futter bestimmt. Da das Futter maximal einen Tag in den Becken verblieb, wurde die pro Fütterung und Becken eingesetzte Futtermenge in sterilem Brackwasser verdünnt und entsprechend über 24 Stunden bei 10 °C und 19 °C inkubiert. Die auf den einzelnen Medien ermittelten Keimzahlen wurden anschließend auf 1 g Futter rückgerechnet.

Bezüglich des Salzgehaltes, der unterschiedlichen Temperaturen und der Messung der verschiedenen bakteriologischen und hydrochemischen Parameter wurde entsprechend der Versuchsserie 1 verfahren.

Um die organische Belastung zusätzlich zu erhöhen, wurden Futterreste und Faeces nicht entfernt.

Da die durch Luftsteine und den ständigen Durchfluß erzeugte Turbulenz in den Hälterungsbecken eine starke Trübung des Wassers bewirkte, mußten die Versuchstiere den Becken entnommen werden, um auf Krankheitssymptome untersucht werden zu können. Diese Entnahme erfolgte nur einmal wöchentlich, um die Gefahr einer Schädigung der Fische durch das "handling" möglichst gering zu halten.

## 3. Versuchsserie

In einem dritten Versuchsansatz sollten speziell die Auswirkungen eines schnellen Temperaturanstiegs untersucht werden. Dazu wurden Flundern ohne äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen bei 10 °C beginnend, einem alle 3 Tage erfolgenden, kontinuierlichen Temperaturanstieg von 1 °C ausgesetzt. Die Hälterung erfolgte in einem Becken mit Brackwasserdurchfluß. Der Versuchszeitraum war auf 30 Tage begrenzt.

Bis zum Abschluß des Versuches wurde so eine Endtemperatur von 19 °C erreicht. Ein solcher Temperaturanstieg entspricht den in früheren Untersuchungen (Ullrich 1989) in der Unterelbe festgestellten, schnellen Temperaturanstiegen im April und Mai.

Um in diesem Versuch auch die Auswirkungen der Langzeithälterung berücksichtigen zu können, wurden 10 entsprechende Flundern unter sonst gleichen Hälterungsbedingungen, jedoch bei konstanten 10 °C über den gleichen Versuchszeitraum gehältert.

### **2.5. Virulenzversuche**

Zum Nachweis der Pathogenität und Virulenz verschiedener, aus erkrankten Flundern und Wasserproben isolierten *Vibrio anguillarum* und *Aeromonas hydrophila*-Stämmen, wurden Versuchsfische mit unterschiedlich hoch konzentrierten Bakteriensuspensionen dieser Stämme infiziert.

Wie bei den Hälterungsversuchen fanden für diese Untersuchungen vor Brunsbüttel gefangene Flundern

Verwendung, die entsprechend den unter 2.4 gemachten Angaben in 100 l-Aquarien bei 15 °C und einem Salzgehalt von  $15 \times 10^{-3}$  gehältert und an die Aquarienbedingungen adaptiert worden waren. Es wurden nur Tiere eingesetzt, die nach der Adaptationsphase keine äußerlich sichtbaren Krankheitserscheinungen aufwiesen.

In einer ersten Versuchsserie erfolgte die Infektion mit vier verschiedenen Stämmen, einem *V. anguillarum*- und einem *A. hydrophila*-Stamm, die aus dem Wundabstrich einer geschwürkranken Flunder, sowie einem *V. anguillarum* und einem *A. hydrophila*-Stamm, die aus Elbwasserproben isoliert worden waren.

Jeweils 5 Versuchstieren zwischen 14 und 20 cm Länge wurden je 0,1 ml einer in physiologischer Kochsalzlösung (0,15 n NaCl-Lösung) hergestellten Bakteriensuspension ( $1,5 \times 10^9$  Zellen  $\times$  ml<sup>-1</sup>) subkutan injiziert. Die Wahl dieser Zelldichte erfolgte nach Literaturangaben (Lallier et al. 1980). Zu Kontrollzwecken wurde 5 Tieren entsprechender Länge jeweils 0,1 ml sterile 0,15 n NaCl-Lösung injiziert. Die Tiere wurden täglich überprüft, um Krankheitsausbrüche und die entsprechenden Inkubationszeiten festzustellen. Bei deutlicher Ausbildung des Krankheitsbildes wurden die nach der Infektion erkrankten Tiere geschlachtet und aus Wundabstrichen und Blutproben versucht, das jeweils verwendete Agens zu reisolieren (ätiologischer Nachweis gemäß den Koch'schen Postulaten, Otte & Brandis 1978). Mit dieser Versuchsserie sollte festgestellt werden, ob es sich bei den verwendeten Bakterienarten um pathogene Stämme handelt.

In einer 2. Serie von Versuchen wurden  $10^4$  Zellen  $\times$  ml<sup>-1</sup> unter sonst gleichen Bedingungen für die subkutane Injektion verwendet. Diese Konzentration entspricht der maximal im Feld vorgefundenen Dichte dieser Bakterien. Mit diesem Virulenztest sollte festgestellt werden, inwieweit mit einer Konzentration von  $10^4$  Zellen  $\times$  ml<sup>-1</sup> bei diesen Stämmen ein möglicher Schwellenwert überschritten wird.

Bei den durchgeführten Virulenzversuchen handelte es sich um Tierversuche, die nach § 8 des Tierschutzgesetzes vom 12.8.1986 (BGBl. I S. 1319) genehmigungspflichtig sind. Für alle Versuche wurde eine Genehmigung durch die zuständigen Behörde (Ministerium für Natur, Umwelt und Landesentwicklung des Landes Schleswig - Holstein) erteilt.

Zum Nachweis hämolytischer Aktivität wurde Bakteriensuspension auf Blutagarplatten ausgestrichen. Verwendet wurde der BBL Columbia Agar mit Zusatz von 5% Schafsblut (BECTON DICKINSON). Fischblut ist zum Hämolysenachweis ungeeignet, da die Erythrozyten von Kaltblütern beim Mischen des Blutes mit dem ca. 40 °C warmen Agar bereits derart geschädigt werden, daß sie eine braune Färbung annehmen und nicht mehr hämolysiert werden können (Schreckenbach 1974). Die Inkubation der beimpften Platten erfolgte über 48 Stunden bei 25 °C.

β -Hämolysen läßt sich auf bluthaltigen Nährböden anhand klarer, farbloser Höfe feststellen. Bei unvollständiger oder α -Hämolysen zeigen die Kolonien hingegen trübe, grüne Höfe.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Bakterielle Infektionskrankheiten der Fische

Während des Untersuchungszeitraumes wurden in der Untereider und -elbe drei mit bakteriellen Infektionen im Zusammenhang stehende Fischkrankheiten festgestellt. Untersuchungen zur Epidemiologie der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule wurden bereits in Forschungsprojekten zwischen 1984 und 1986 in der Untereibe (Möller 1988) und zwischen 1987 und 1989 in verschiedenen Ästuaren und Wattengebieten der deutschen Nordseeküste durchgeführt (Anders & Möller 1991). Des weiteren sind bereits erste Untersuchungen zur bakteriellen Ätiologie dieser Krankheiten an Fischen der Untereibe erfolgt (Ullrich 1989).

Das Krankheitsbild der im Untersuchungsgebiet überwiegend bei Plattfischen festgestellten Hautgeschwürkrankheit ist in der Anfangsphase durch die Ausbildung von Petichien und Hämorrhagien, die überwiegend an den Hautoberflächen auftreten, sowie die Ausbildung tiefer, nekrotischer Ulzera in der akuten Phase (Abb. A.1) gekennzeichnet. Häufig kann auch eine Anämie in verschiedenen Organen festgestellt werden. So zeigt sich beispielsweise in der Regel bei erkrankten Fischen Kiemenblässe. Die Krankheit kann chronisch verlaufen. Im Untersuchungsgebiet wurden jedoch auch vereinzelt Tiere mit abgeheilten Läsionen gefunden.

Auffälligstes Merkmal der Flossenfäule ist die in der akuten Phase feststellbare Flossenregression zwischen den Flossenstrahlen. Als erstes Krankheitssymptom zeigt sich in der Regel eine milchige Trübung des befallenen Flossengewebes. Am Nekroserand ist oftmals eine entzündliche Hyperämie zu beobachten (Abb. A.2). Mit fortschreitendem Krankheitsverlauf kommt es dann auch zur Zerstörung der Flossenstrahlen und zu einem Befall des angrenzenden Gewebes im Bereich der Flossenbasen. Hier zeigen sich entsprechende Entzündungen und anschließender Gewebetod.

In den folgenden Abschnitten (3.3 - 3.4.3) sind die Ergebnisse der bezüglich dieser beiden Krankheiten vergleichend in beiden Flußabschnitten durchgeführten, epidemiologischen und bakteriologischen Untersuchungen dargestellt. Die hierzu korrespondierenden hydrophysikalischen und -chemischen Meßdaten werden im Kapitel 3.2 diesen Ergebnissen vorangestellt.

Als dritte, mit einer bakteriellen Infektion einhergehende Fischkrankheit wurde die erstmals 1987 von Möller und Mitarbeitern beschriebene, sogenannte "Gelbe Pest" (Anders & Möller 1989) bakteriologisch untersucht. Diese konnte bisher nur bei juvenilen Kabeljaus in Ästuaren und angrenzenden Wattengebieten der deutschen Nordseeküste festgestellt werden. Das Krankheitsbild ist durch die Ausbildung gelblich pigmentierter Knötchen im Maul- und Kiemenbereich erkrankter Tiere geprägt. Im Krankheitsverlauf wird das befallene Gewebe nekrotisch, das angrenzende Gewebe zeigt entzündliche Hyperämien. In Folge kommt es offenbar zu einem progressiven Gewebetod. So wurden in einigen Fällen Tiere gefunden, bei denen der Unterkiefer bis auf einen nekrotischen Stummel völlig zerstört war. Die Ergebnisse der durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen sind unter 3.4.4 dargestellt.

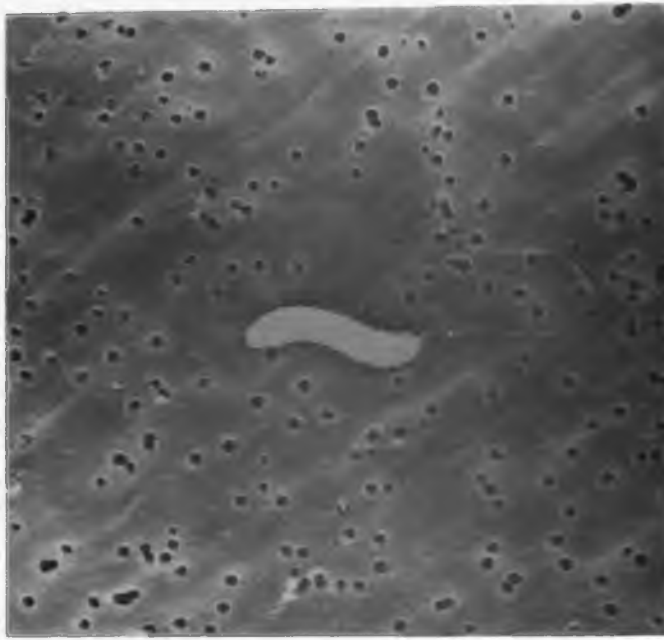
Die ergänzend zu den Felduntersuchungen durchgeführten Simulationsexperimente und der Virulenzversuche werden in den Kapiteln 3.5 und 3.6 abgehandelt.



**Abb. A 1** Flunder mit Hautgeschwüren. Im Zentrum der Ulzera ist die freiliegende, entzündlich gerötete Muskulatur erkennbar. Am weißen Nekroserand tritt Hyperämie auf



**Abb. A 2** Flunder mit Flossenfäule. Deutlich zu erkennen ist die Regression des Flossengewebes zwischen den Flossenstrahlen sowie Hyperämie im Bereich des Nekroserandes



— 1  $\mu\text{m}$

**Abb. A 3** *Vibrio anguillarum*. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme, 1 : 10000. Abgebildet ist eine kurz vor der Teilung stehende Zelle. Deutlich erkennbar ist die monopolare Begeißelung



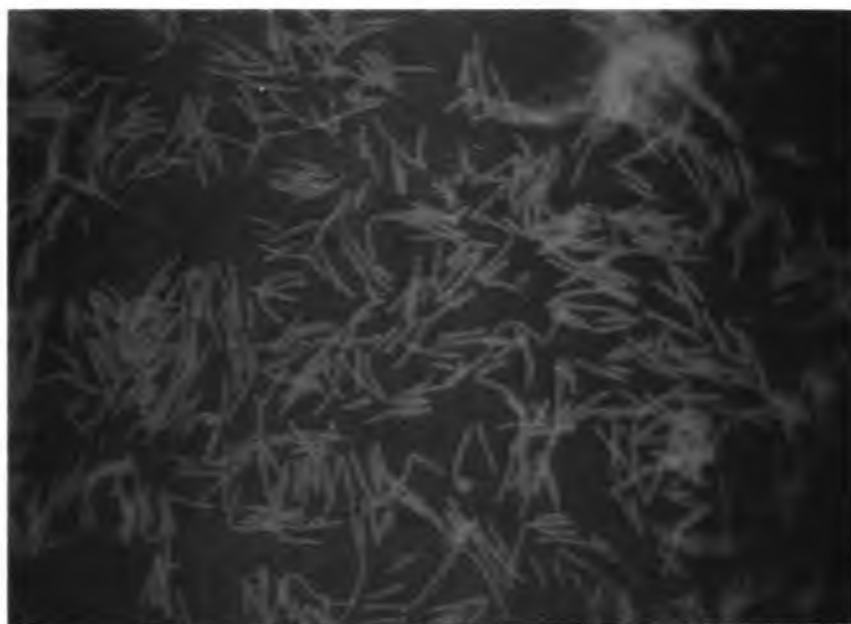
— 1  $\mu\text{m}$

**Abb. A 4** *Aeromonas hydrophila*. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme, 1 : 10000





**Abb. A 5** Kabeljau mit "Gelber Pest". Dargestellt ist ein 3 Monate unter Kulturbedingungen gehaltenes Tier. Erkennbar ist die auf der linken Seite aufgetretene Erosion des Unterkieferhaut- und Knochengewebes, wodurch der gesamte Unterkiefer nach links verschoben ist. Im Zentrum der Läsion ist das Gewebe angeschwollen, die nach dem Fang noch zu beobachtende typisch gelbliche Pigmentierung kann nicht mehr festgestellt werden



— 10  $\mu\text{m}$

**Abb. A 6** *Cytophaga* - *Flexibacter* -ähnliches Bakterium, das aus den für das Krankheitsbild typischen, gelben Knötchen eines an "Gelber Pest" erkrankten Kabeljaus isoliert wurde; Fluoreszenzmikroskopisches Präparat

### 3.2 Auswertung der hydrophysikalischen und -chemischen Daten

Bezüglich der in den folgenden Abschnitten (3.2 - 3.4.2) dargestellten Grafiken der Flußlängsschnitte ist generell folgendes anzumerken:

die Stationen sind von rechts nach links im Flußverlauf (flußabwärts) angegeben. Aus verarbeitungstechnischen Gründen konnten maximal 8 Werte pro Station aufgeführt werden. Die Auswahl erfolgte dabei so, daß die im jahreszeitlichen Verlauf auftretenden Schwankungsbreiten der jeweiligen Meßgrößen berücksichtigt wurden. Die angeführten Stationsmittelwerte ergeben sich aus der Gesamtheit der pro Station zur Verfügung stehenden Daten. Dabei ist zu berücksichtigen, daß nicht für alle Stationen die gleiche Anzahl von Daten vorlag. Die angegebenen Mittelwerte sind deshalb vielfach nicht direkt miteinander vergleichbar. Angaben zu fehlenden Daten können jeweils den einzelnen Abschnitten entnommen werden.

#### Temperatur

Die für den Untersuchungszeitraum erstellten Temperaturprofile zeigten -vermutlich aufgrund der tidenbedingten hohen Turbulenz bei geringen Tiefen- nur sehr geringfügige Temperaturänderungen mit zunehmender Tiefe. Aus diesem Grunde wird hier auf die Darstellung der Tiefenprofile verzichtet, und es werden nur die 2 m über Grund ermittelten Temperaturen angegeben (Abb. 3.1 und 3.2).

In der Eider wurde die höchste Temperatur im Juni '89 auf der Station 3 mit 21.2 °C ermittelt, die niedrigste im November mit 1,4 °C auf der Station III. Starke Temperaturabnahmen von 8 °C - 10 °C konnten vom Oktober zum November beobachtet werden. Im Zeitraum April-Mai war ein schneller Anstieg von 6 °C - 7 °C, auf der Vergleichsstation Eider I sogar um ca. 8 °C zu verzeichnen. Der Temperaturgradient zwischen den

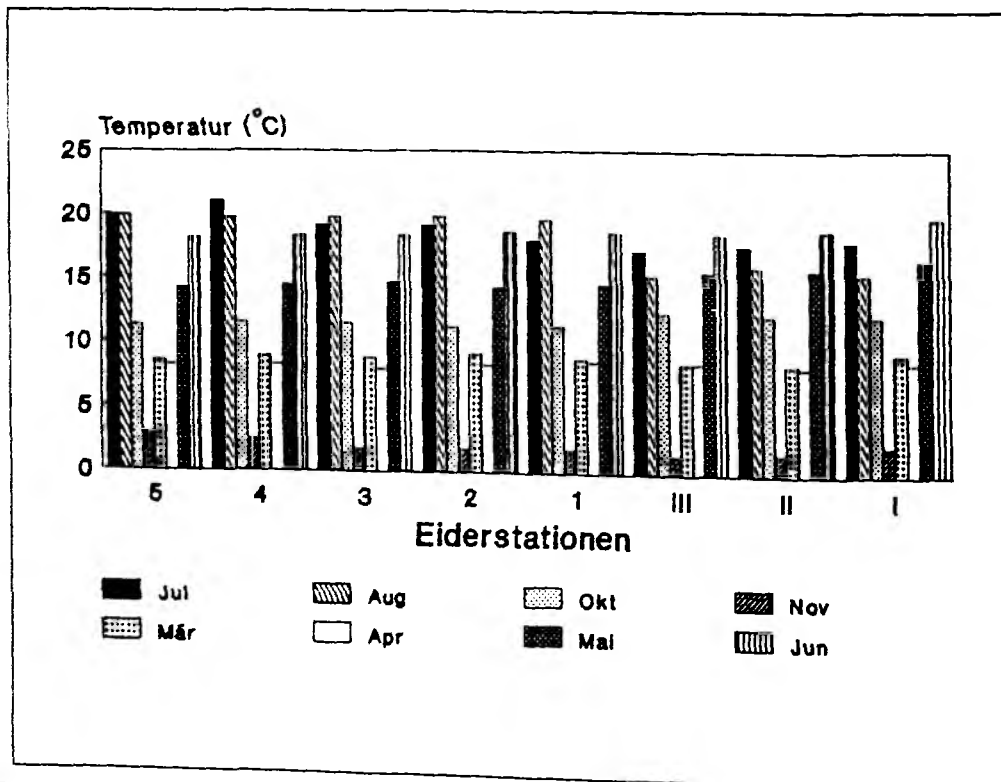


Abb. 3.1 Temperaturdiagramm der Eiderstationen (8 ausgewählte Monate), die Messungen erfolgten 2 m über Grund

äußeren Stationen schwankte zwischen 0.8 °C und 4.5 °C. Im Juni '90 lagen die Temperaturen gegenüber dem Vorjahr um durchschnittlich 1.7 °C niedriger, im Juli sogar um durchschnittlich 3.2 °C. Im Juni '89 liegen keine Temperaturdaten für die Stationen I, II und III vor.

Für die Elbe wurde die höchste Temperatur im August '89 mit 21,1 °C an der Station 6 ("Stade") festgestellt, die niedrigste im November '89 mit 3.8 °C auf der Station 7 (Mühlenberger Loch). Wie in der Eider konnten auch hier ein deutlicher Temperaturrückgang zwischen Oktober und November '89 (6 - >8 °C) und ein deutlicher Anstieg zwischen April und Mai '90 (6 - >8 °C) festgestellt werden. Im Gegensatz zur Eider konnten für die Elbe im Juli '90 mit durchschnittlich 0,4 °C nur unwesentlich niedrigere Temperaturen gegenüber dem Vorjahr ermittelt werden. Für den Untersuchungszeitraum konnte flußabwärts ein mittlerer Temperaturgradient von 2,2 °C festgestellt werden. Für Juli und August '89 liegen keine Daten für die Station 3, im März '90 für die Stationen 1 und 2 und im April '90 für die Station 1 vor.

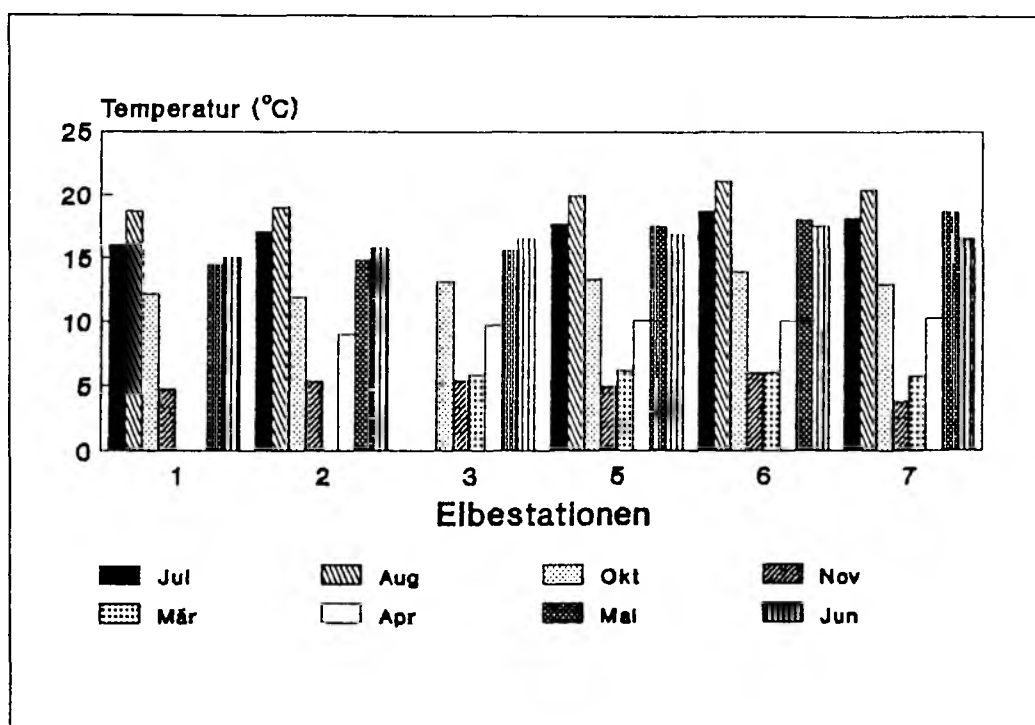


Abb. 3.2 Temperaturdiagramm der Elbestationen (8 ausgewählte Monate); die Messungen erfolgten 2 m über Grund

### Salzgehalt

Entsprechend den Temperaturdaten sind nur die 2 m über Grund ermittelten Salzgehaltsdaten angegeben und können für ausgewählte Monate den Abb. 3.3 und 3.4 entnommen werden.

Wie unter 2.1 bereits erwähnt, ist im Bereich des untersuchten Eiderabschnittes aufgrund der gegenüber der Elbe sehr viel geringeren Abflußraten mit vergleichsweise hohen Salzgehalten zu rechnen. Noch bis oberhalb von Tönning (Station III) wurden Salzgehalte bis zu  $15.8 \times 10^{-3}$  gemessen. Mit  $29.9 \times 10^{-3}$  konnte der höchste Wert in der Außeneider (Juli 90, Station 5) ermittelt werden, der niedrigste mit  $0.3 \times 10^{-3}$  für die Station II (Februar. 90).

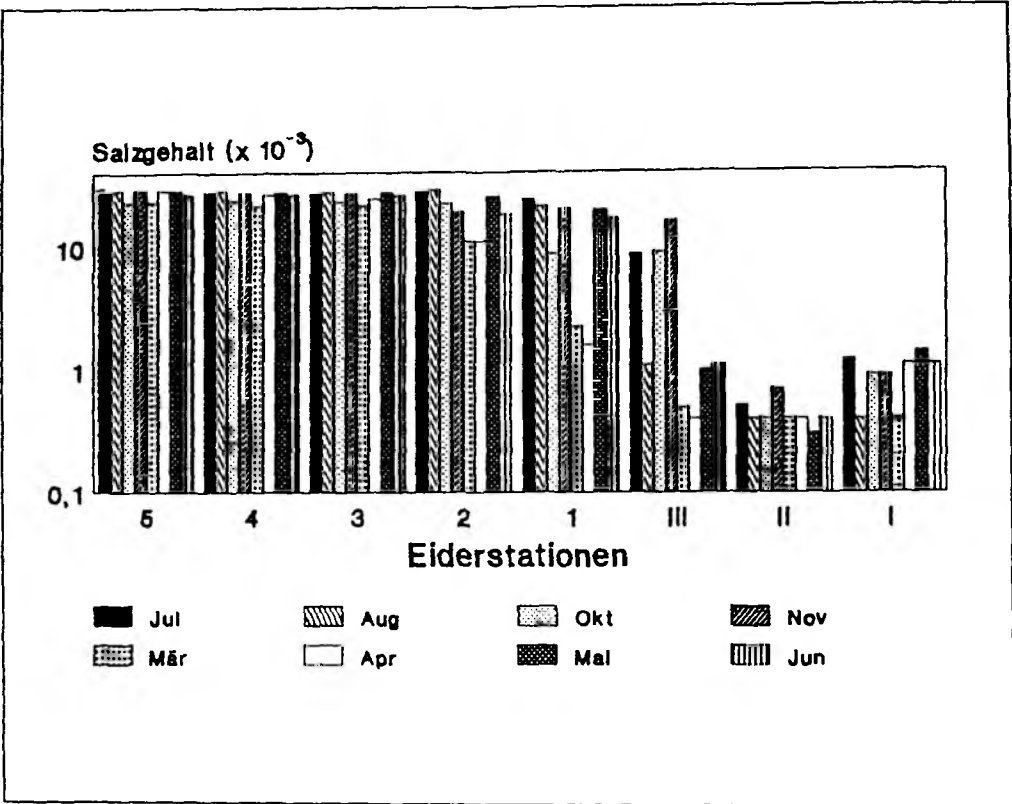


Abb. 3.3 Salzgehalt der Eiderstationen (8 ausgewählte Monate), die Messungen erfolgten 2 m über Grund

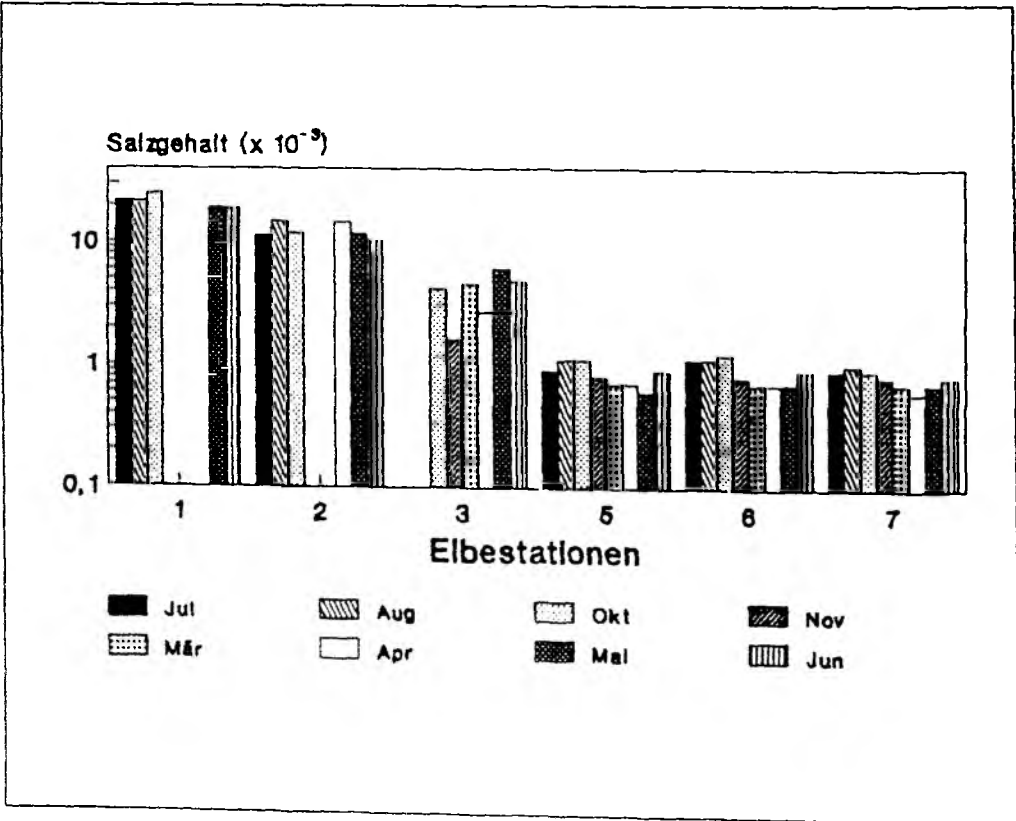


Abb. 3.4 Salzgehalt der Elbestationen (8 ausgewählte Monate), die Messungen erfolgten 2 m über Grund

Der Abschnitt oberhalb Tönning bis zum Eidersperrwerk (Stationen III - 2) ist -verglichen mit den für das zentrale Elbeästuar ermittelten Werten- gekennzeichnet durch hohe Salzgehaltsschwankungen. So wurden an der Station I Werte zwischen  $1,6$  und  $26,5 \times 10^{-3}$  gemessen. Für die Station 2 wurden Salzgehaltswerte zwischen  $0,4$  und  $15,8 \times 10^{-3}$ , für die Station II zwischen  $10,9$  und  $26,5 \times 10^{-3}$  ermittelt.

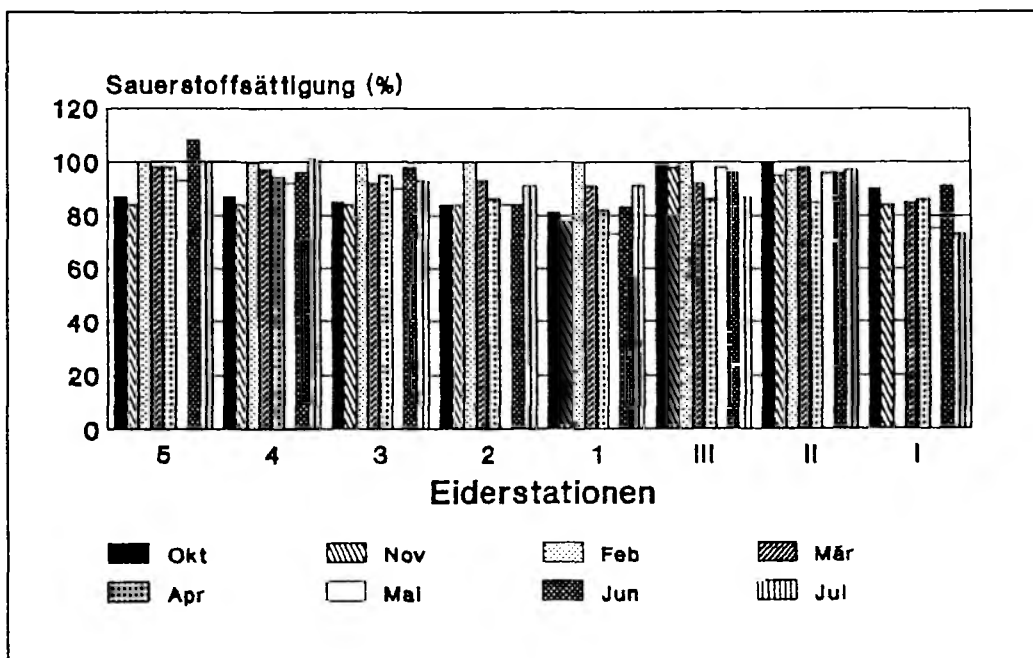
Sehr viel geringere Schwankungen konnten in der Außeneider festgestellt werden. Die flußaufwärts gelegenen Süßwasserstationen II und I zeigten keine nennenswerten Änderungen. Im Juni '89 wurden keine Daten für die Stationen I, II, III, im Februar '90 für die Station I ermittelt.

Mit  $24,7 \times 10^{-3}$  ließ sich der höchste Salzgehalt in der Elbe vor Cuxhaven (Station 1 im Oktober '89), der niedrigste mit  $0,6 \times 10^{-3}$  im Mühlenberger Loch (Station 7 im April '90) feststellen. Hohe Salzgehaltsschwankungen konnten für die Stationen 1 ( $16,0 - 24,7 \times 10^{-3}$ ), 2 ( $6,5 - 14,8 \times 10^{-3}$ ) und 3 ( $1,0 - 7,0 \times 10^{-3}$ ) ermittelt werden, geringe Salzgehaltsänderungen für die Stationen 5, 6 und 7 zwischen  $0,6$  und  $1,3 \times 10^{-3}$ .

Insgesamt ließen sich für die Eider höhere Salzgehalte bestimmen. Die Salinität nimmt zudem etwas oberhalb von Tönning abrupt ab, während in der Elbe flußaufwärts eine langsame Abnahme zu beobachten ist. Beiden Flüssen gemeinsam sind die hohen Salzgehaltsschwankungen in den zentralen Ästuaren, wobei für die Eider mit bis zu  $25 \times 10^{-3}$  (Station 1) deutlich höhere Salzgehaltsschwankungsbreiten festgestellt wurden als für die Elbe (max. Schwankungsbreiten von  $8 \times 10^{-3}$ , Station 2).

#### Sauerstoff

Die Abb. 3.5 und 3.6 zeigen die 2 m über Grund ermittelten Sauerstoffsättigungswerte für ausgewählte Monate.



**Abb. 3.5** Sauerstoffsättigungswerte der Eiderstationen (8 ausgewählte Monate), die Messungen erfolgten 2 m über Grund

Im untersuchten Abschnitt der Tideeider wurden generell Sauerstoffsättigungswerte  $\geq 80\%$  ermittelt. Im Juni '90 trat in der Außeneider Übersättigung auf (108 %, Station 5, 104 %, Station 3). Der niedrigste Wert wurde mit 73 % Sättigung für die Vergleichsstation Eider I im Juli '90 ermittelt.

Für die Elbestationen 1, 2 und 3 ließen sich Sauerstoffverhältnisse zwischen 70 % und 108 % Sättigung nachweisen. Im Juni '90 konnte auf Station 1 Übersättigung festgestellt werden. Für die oberhalb Stades gelegenen Stationen 5, 6 und 7 hingegen wurden ungünstigere Werte ermittelt. Mit 33 % ( $3,3\text{mg O}_2/\text{l}$ ), 25 % ( $2,5\text{mg O}_2/\text{l}$ ) und 21 % ( $2,1\text{mg O}_2/\text{l}$ ) traten im Mai '90 Werte auf, die im Bereich der für Fische kritischen Sauerstoffgrenze liegen (Rosenthal & Munro 1985).

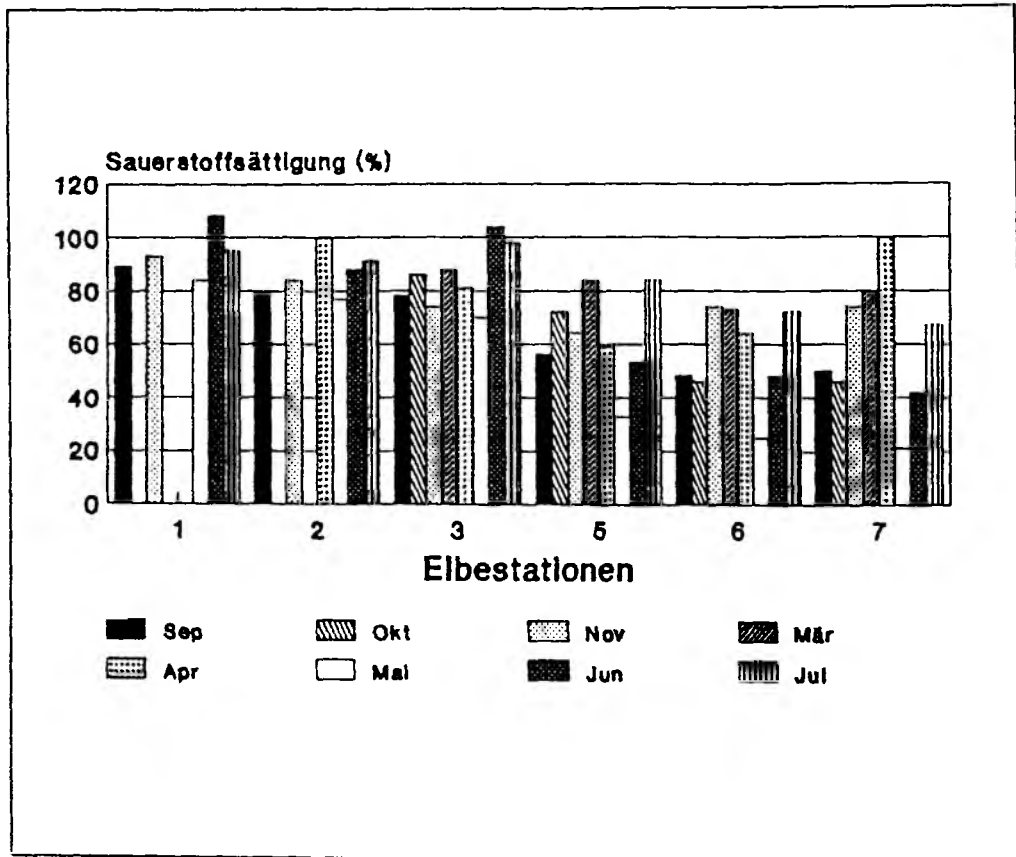


Abb. 3.6 Sauerstoffsättigungswerte der Elbestationen (8 ausgewählte Monate), die Messungen erfolgten 2 m über Grund

### BSB<sub>7</sub> - Werte

Die für den Zeitraum November '89 - Juli '90 ermittelten BSB<sub>7</sub> - Werte sind in den Abb. 3.7 und 3.8 dargestellt.

Für die Eider kann danach flußaufwärts eine geringfügige Abnahme der Sauerstoffzehrung beobachtet werden. Die über den Untersuchungszeitraum gemittelten Werte liegen zwischen  $7,6\text{ mg O}_2/\text{l}$  (Station II) und  $5,2\text{ mg O}_2/\text{l}$  (Station 4).

Auffällig sind die für fast alle Stationen zu beobachtenden hohen Schwankungsbereiche.

Die höchste Sauerstoffzehrung wurde mit 11,3 mg O<sub>2</sub>/l im April auf der Vergleichsstation Eider I, der niedrigste Wert mit 2,5 mg O<sub>2</sub>/l im Februar für die Station Eider 5 ermittelt. Deutliche, jahreszeitlich bedingte Änderungen konnten nicht festgestellt werden. So lag der über alle Stationen gemittelte BSB<sub>7</sub> - Wert im November '89 bei 6,5 mg O<sub>2</sub>/l, im Mai '90 bei 6,2 und im Juni '90 etwas höher bei 7,8 mg O<sub>2</sub>/l.

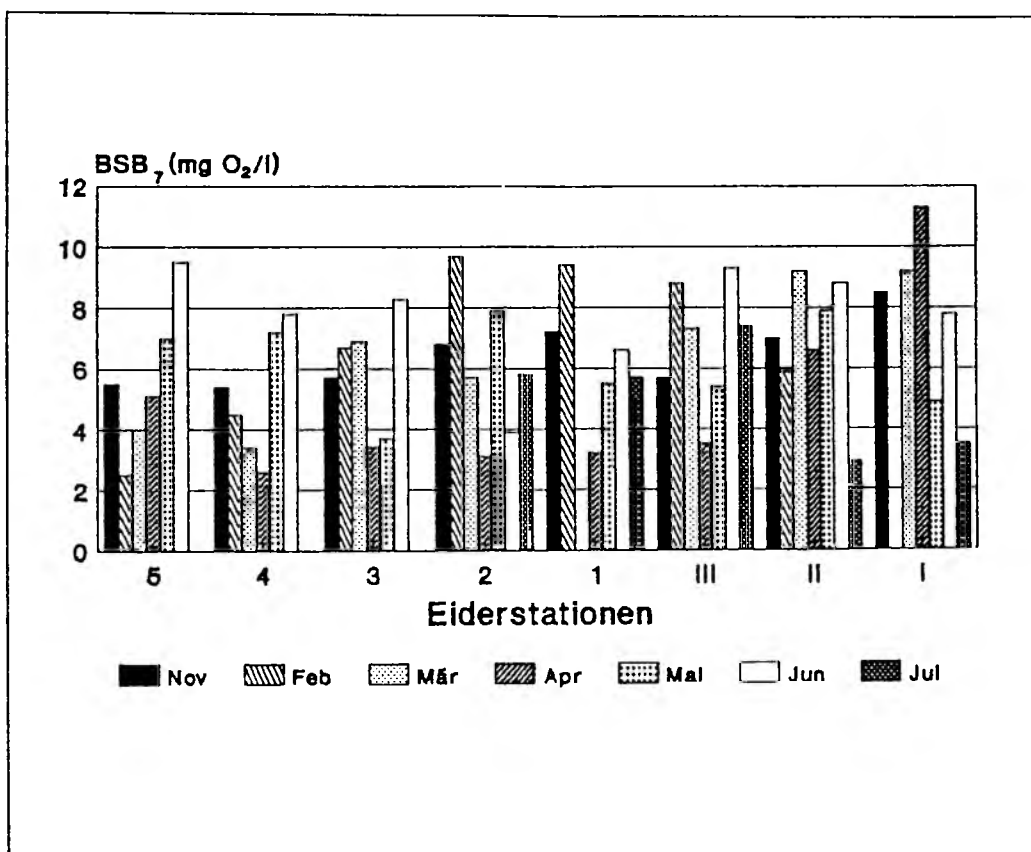


Abb. 3.7 BSB<sub>7</sub> - Werte der Eiderstationen (8 ausgewählte Monate)

Im Gegensatz zur Eider war in der Elbe seewärts eine deutliche Abnahme der BSB<sub>7</sub> - Werte zu beobachten. So wurde im Mühlenberger Loch (Station 7) eine durchschnittliche Sauerstoffzehrung von 6,5 mg O<sub>2</sub>/l für den Untersuchungszeitraum ermittelt. Vor Cuxhaven (Station 1) lag der durchschnittliche BSB<sub>7</sub> - Wert bei 2,5 mg O<sub>2</sub>/l. Im Vergleich zur Eider konnten im Untersuchungszeitraum nur geringe Schwankungen für die einzelnen Stationen festgestellt werden. Für die oberhalb Hamburgs gelegenen Vergleichsstationen (Station I, VI, IX) ließen sich deutlich höhere BSB<sub>7</sub> - Werte zwischen 8,7 und 11,1 mg O<sub>2</sub>/l ermitteln.

Im Zeitraum November '89 bis Mai '90 konnten keine wesentlichen Änderungen der BSB<sub>7</sub> - Werte beobachtet werden, im Juni '90 stiegen die Werte auf durchschnittlich 7,2 mg O<sub>2</sub>/l an.

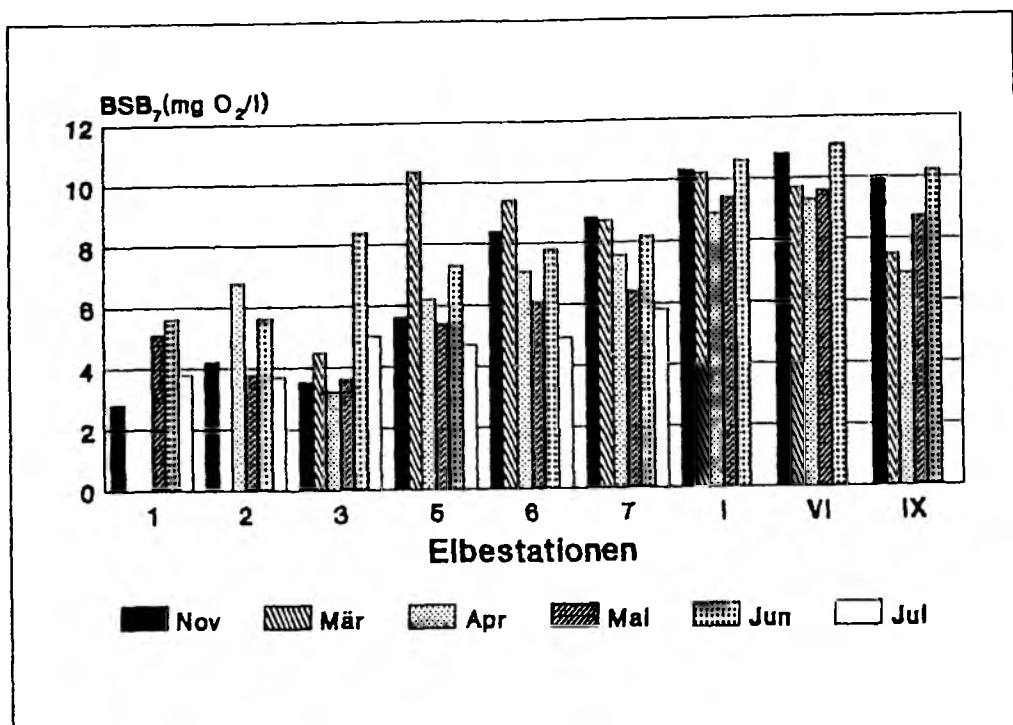


Abb. 3.8 BSB<sub>7</sub> - Werte der Elbestationen (8 ausgewählte Monate)

Insgesamt wurden für beide Flußabschnitte ähnlich hohe BSB<sub>7</sub> - Werte ermittelt, wobei für die Elbe seewärts eine deutliche Abnahme der Sauerstoffzehrung feststellbar war, während für die Eider flußabwärts nur geringfügige Änderungen auftraten. Generell ließen sich für die einzelnen Stationen hohe Schwankungsbreiten ermitteln.

#### pH - Werte

Die stichprobenartig durchgeführten pH - Messungen ergaben pH - Werte zwischen 7,5 und 8,1.

#### Ammonium, Nitrit, Nitrat

In der Eider wurden zwischen Friedrichstadt (Eider II) und Eidersperrwerk (Eider 2) im Mittel ähnlich hohe Ammonium-Werte festgestellt (Abb. 3.9).

Hohe Konzentrationen ließen sich für die Monate November und Februar feststellen. Im Mai und Juni hingegen wurden niedrige Ammoniumwerte gemessen.

Mit 610 µg NH<sub>4</sub>/l konnte die höchste Konzentration im November '89 für die Vergleichsstation Eider I ermittelt werden. Für diese Station ergab sich mit 268 µg NH<sub>4</sub>/l auch der durchschnittlich höchste Ammonium-Wert im Vergleich zu allen anderen Eiderstationen. In der Außeneider nahmen die Werte seewärts langsam ab. Der niedrigste Meßwert wurde für die Station Eider 5 im Mai '90 ermittelt (59 µg NH<sub>4</sub>/l). Keine Daten liegen für folgende Stationen und Monate vor: Oktober '89 (Station 1,2), Februar '90 (Station 5,3,I), Mai '90 (Station I), Juni '90 (Station 5) und Juli '90 (Station 1).



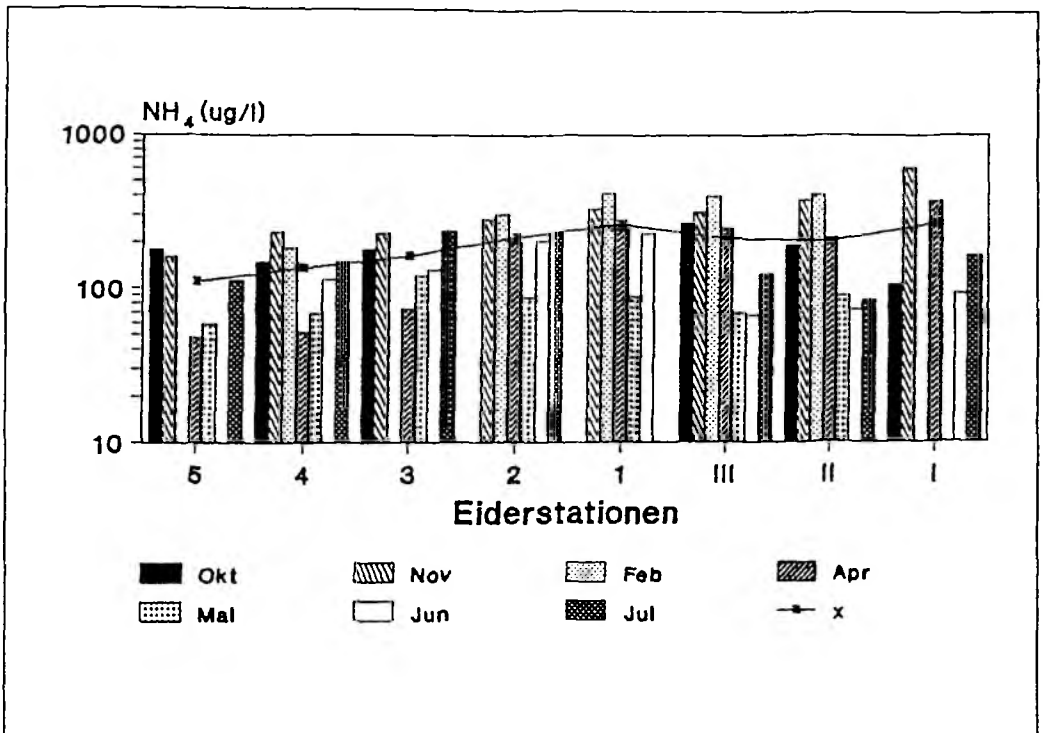


Abb. 3.9 Ammoniumwerte der Eiderstationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

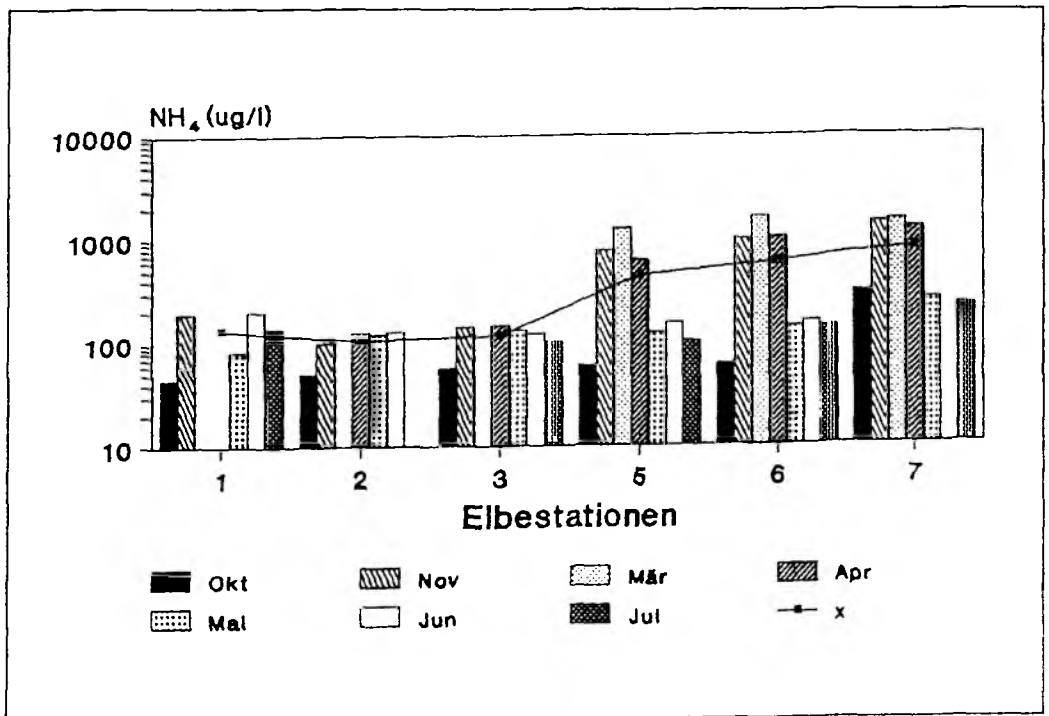


Abb. 3.10 Ammoniumwerte der Elbestationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Im untersuchten Abschnitt der Unterelbe konnte im Gegensatz zur Eider ein deutlicher  $\text{NH}_4$ -Gradient festgestellt werden (Abb. 3.10). Im Mittel lagen die Werte im Mühlenberger Loch (Station Elbe 7) mit  $819 \mu\text{g NH}_4/\text{l}$  um mehr als das sechsfache höher als vergleichsweise vor Cuxhaven (Station Elbe 1). Entsprechend den in der Eider vorgefundenen Verhältnissen wurden auch hier die höchsten Werte zwischen November '89 und April '90 festgestellt. Im Mai, Juni und Juli '90 lagen die Werte hingegen wieder deutlich niedriger.

Im Mittel konnten für die Stationen Elbe 1, 2 und 3 Werte zwischen  $118$  und  $134 \mu\text{g NH}_4/\text{l}$  gemessen werden, während flußaufwärts zwischen Pagensand (Station 5) und Mühlenberger Loch (Station 7) ein starker Anstieg feststellbar war. Mit Werten zwischen  $994$  und  $1620 \mu\text{g NH}_4/\text{l}$  (Station 6, 7) ließen sich im November '89, März und April '90 deutlich höhere Ammonium-Konzentrationen als im vergleichbaren Zeitraum in der Eider messen.

In der Abb. 3.11 sind die für die Eiderstationen ermittelten  $\text{NO}_2$  - Werte dargestellt. Für folgende Monate und Stationen liegen keine Daten vor: Oktober '89 (Station 1, 2), Februar '90 (Station I), Mai '90 (Station 1, I), Juni '90 (Station 5, 4, II) und Juli '90 (Station 1).

Im Flußverlauf konnten keine wesentlichen Unterschiede der mittleren Nitrit-Konzentrationen festgestellt werden. Zwischen Friedrichstadt (Eider II) und der Station Eider 5 wurden Durchschnittswerte zwischen  $77$  und  $115 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  ermittelt. Nur für die Vergleichsstation Eider I konnten mit  $202 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  im Mittel deutlich höhere Werte festgestellt werden. An dieser Station wurde auch die höchste Konzentration mit  $393 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  im Februar '90 gemessen. Im jahreszeitlichen Verlauf konnten zwischen Oktober '89 und Februar '90 die höchsten Nitrit-Werte gemessen werden.

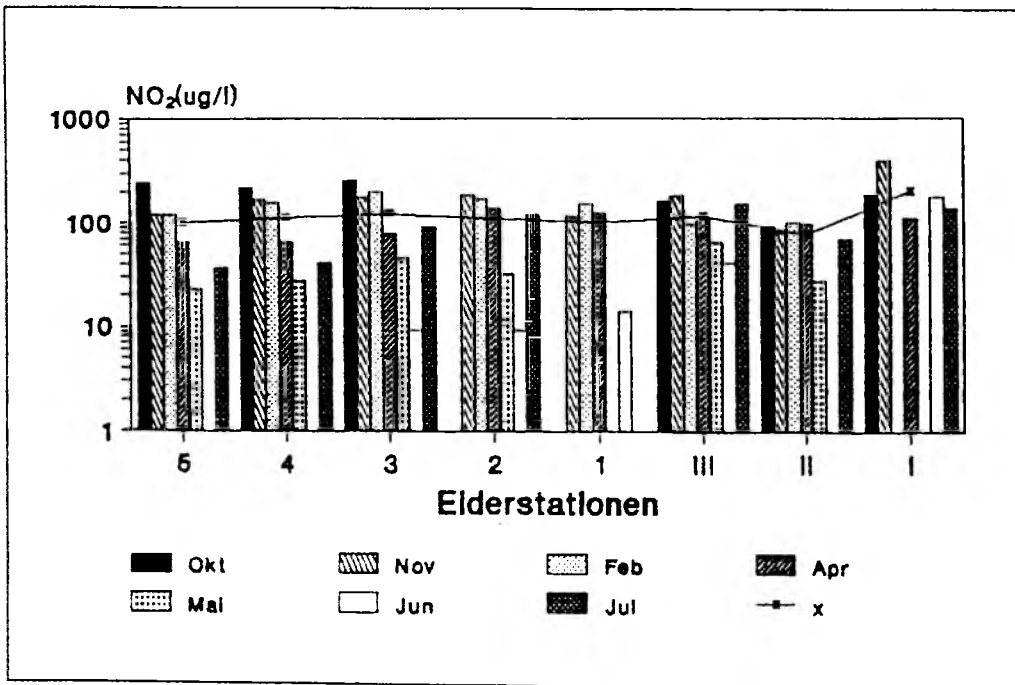


Abb. 3.11 Nitritwerte der Eiderstationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Im Mai und Juni '90 gingen die  $\text{NO}_2$  - Konzentrationen zurück. Mit  $23 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  wurde der niedrigste Nitritwert im Mai an der Station Eider 5 festgestellt.

Abb. 3.12 zeigt die für die Elbestationen ermittelten  $\text{NO}_2$  - Werte. Für folgende Stationen und Monate liegen keine Daten vor: März '90 (Station 1,2,3), April '90 (Station 1), Juni '90 (Station 7), Juli '90 (Station 2).

Auch für den untersuchten Elbabschnitt konnte kein deutlicher  $\text{NO}_2$  - Gradient gefunden werden. Im Bereich zwischen Stade (Station 6) und Cuxhaven (Station 1) wurden Mittelwerte zwischen 21 und  $68 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  errechnet. Mit durchschnittlich  $215 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  konnte nur im Mühlenberger Loch eine deutlich höhere Nitrit-Konzentration gefunden werden. Insgesamt ließen sich im April '90 die durchschnittlich höchsten Werte feststellen, im Juni '90 gingen die Werte wieder deutlich zurück. Im Gegensatz zur Eider konnten jedoch auch noch im Mai '90 hohe Werte gefunden werden. Mit  $610 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  wurde der Maximalwert in diesem Monat für die Station 7 ermittelt. Die niedrigste Konzentration konnte mit  $8 \mu\text{g NO}_2/\text{l}$  im Oktober '89 an der Station 3 bestimmt werden.

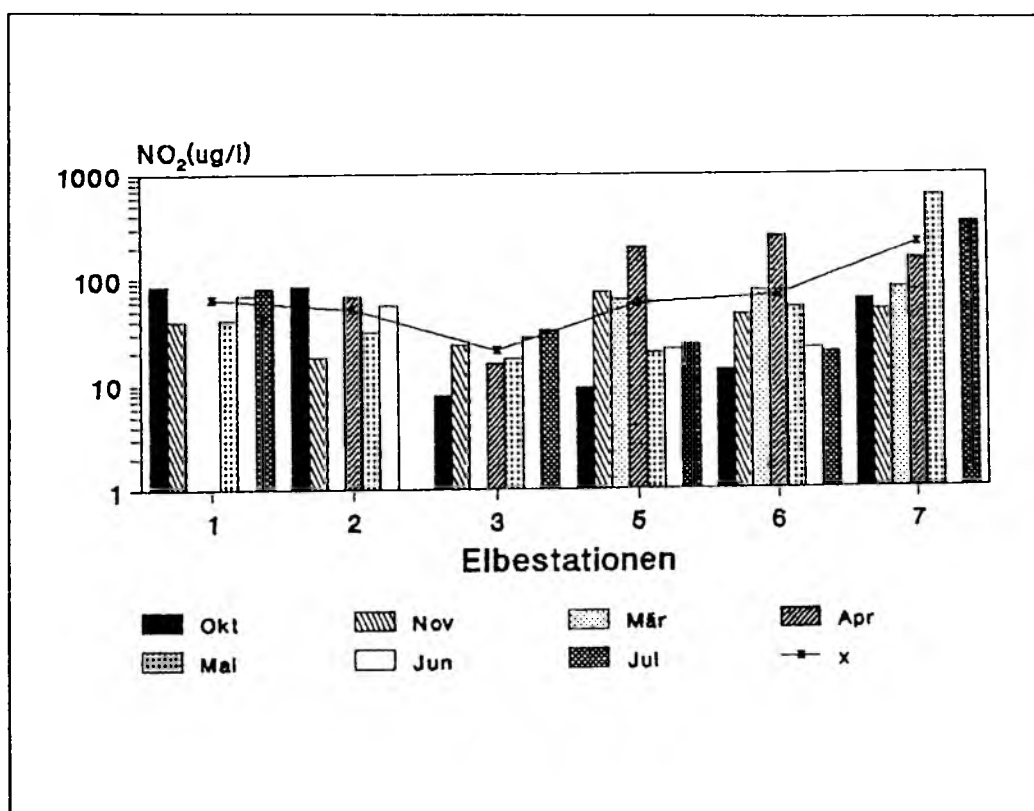


Abb. 3.12 Nitritwerte der Elbestationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Im Vergleich ließen sich für die untersuchten Elbe- und Eiderbereiche ähnlich hohe Nitrit-Konzentrationen feststellen, wobei für die jeweils am weitesten flüßaufwärts gelegenen Stationen im Mittel deutlich höhere Werte als für die übrigen Stationen gefunden wurden. In der Eider waren die höchsten Werte während der Wintermonate und im Frühjahr, in der Elbe hingegen im späten Frühjahr zu beobachten.

Die für die Eiderstationen bestimmten  $\text{NO}_3$  - Werte können der Abb. 3.13 entnommen werden. Für folgende Monate und Stationen liegen keine Daten vor: Oktober '89 (Station 2, 1), Februar '90 (Station I), Mai '90 (Station 2, 1, I), Juni '90 (Station 5) und Juli '90 (Station 1).

Gegenüber der Außeneider wurden zwischen Friedrichstadt (Station II) und Eidersperrwerk (Station 2) durchschnittlich deutlich höhere  $\text{NO}_3$  - Werte mit einem Pik (9418  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$ ) bei Tönning gefunden. Seewärts nahmen die Konzentrationen langsam ab.

Hohe Werte wurden im Februar und April festgestellt. Der Maximalwert konnte im Februar mit 20178  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  für die Station Eider II ermittelt werden. In den Monaten Mai, Juni und Juli ließ sich eine deutliche Abnahme der  $\text{NO}_3$  - Werte beobachten.

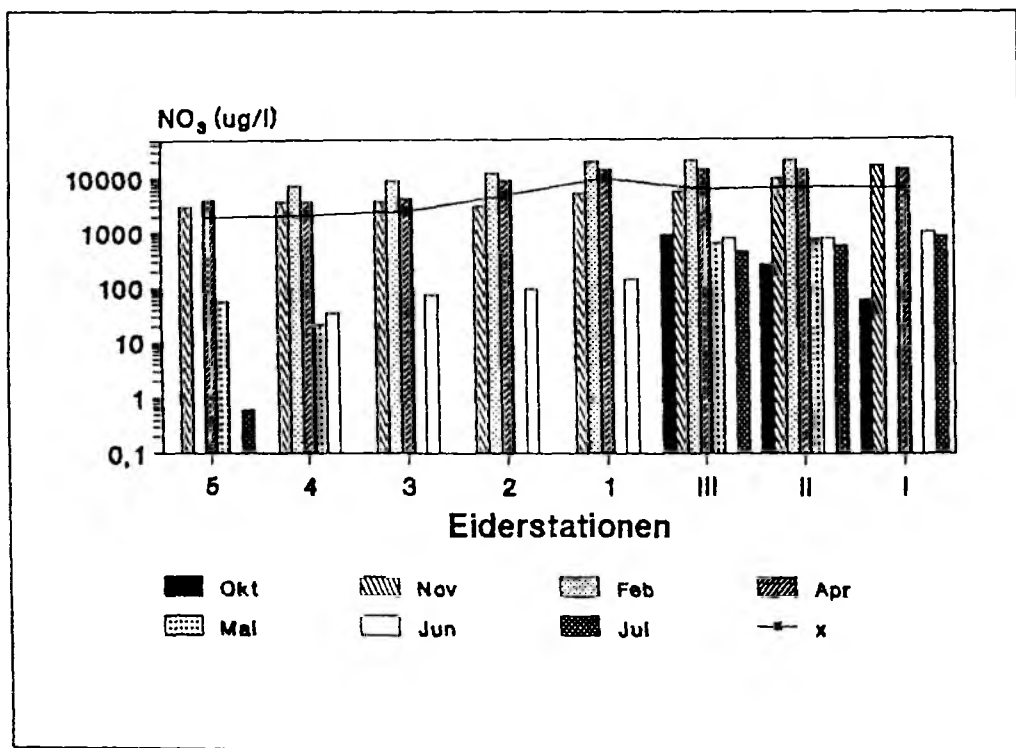


Abb. 3.13 Nitrat-Konzentrationen der Eiderstationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

In der Abb. 3.14 sind die für die Elbestationen ermittelten  $\text{NO}_3$  Konzentrationen dargestellt. Für folgende Monate und Stationen liegen keine Daten vor: März '90 (Station 1, 2, 3), April '90 (Station 1), Juni '90 (Station 7) und Juli '90 (Station 2).

In der Elbe konnte im Mittel eine Abnahme der  $\text{NO}_3$ -Konzentration flußabwärts beobachtet werden. So wurden im Mühlenberger Loch (Station 7) durchschnittlich 7688  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$ , vor Cuxhaven (Station 1) nur noch 705  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  bestimmt. Besonders auffällig sind die sehr hohen Werte im März und April '90. Sie lagen im April zwischen 17900  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  (Station 2) und 27400  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  (Station 3) und damit gegenüber den übrigen Monaten um ca. das 10-fache höher.

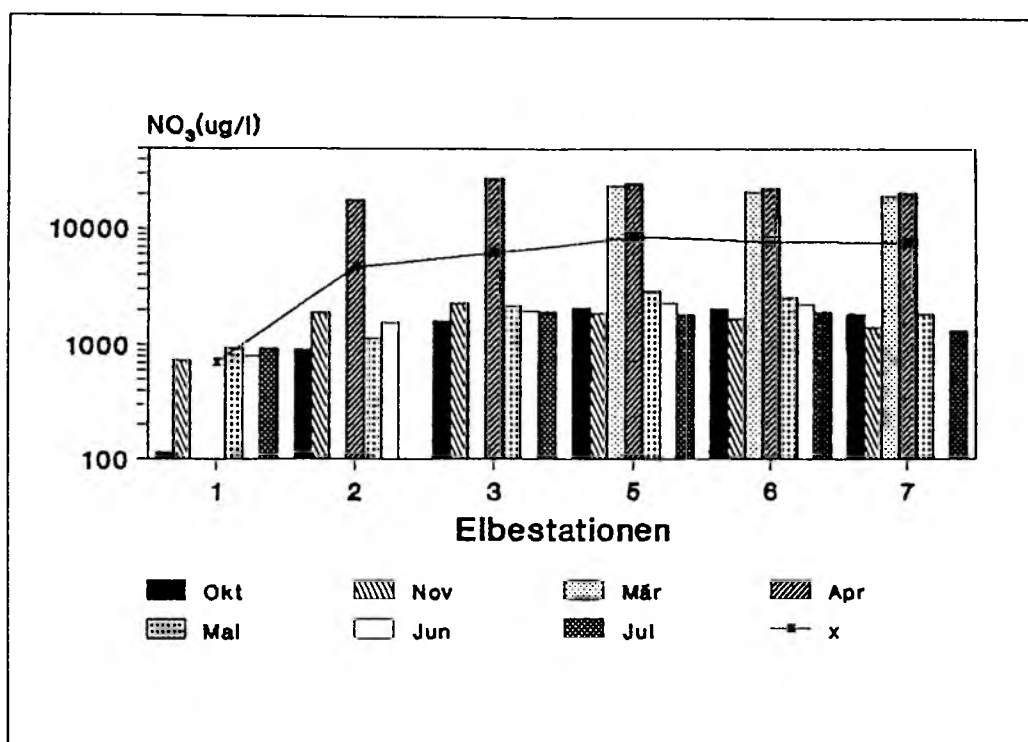


Abb. 3.14 Nitrat-Konzentrationen der Elbestationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Vergleichend kann für beide Flußabschnitte ein sprunghafter Anstieg der NO<sub>3</sub>-Werte im Frühjahr und ein anschließend schneller Rückgang während der Sommermonate beobachtet werden.

### 3.3 Prävalenzen der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule im Untersuchungsgebiet

#### 3.3.1 Gesamtfang

Insgesamt wurden in der Elbe 9900 Fische gefangen und auf äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen untersucht, in der Eider waren es 24606. In Tabelle 3.1 sind die nach Individuenzahl 10 häufigsten gefangenen und untersuchten Arten für die Eider und Elbe aufgeführt.

Der übrige Gesamtfang setzt sich in der Eider aus Aal (*Anguilla anguilla*), Grundel (*Gobius niger*), Sprotte (*Sprattus sprattus*), Hering (*Clupea harengus*), Kabeljau (*Gadus morhua*), Quappe (*Lota lota*), Zander (*Stizostedion lucioperca*), Brassen (*Abramis brama*), Güster (*Blicca björkna*), Seenadel (*Sygnathus spec.*), Leierfisch (*Callyonymus lyra*), Butterfisch (*Pholis gonellus*) und Sandaal (*Ammodytes spec.*), in der Elbe aus Stichling (*Gasterosteus aculeatus*), Hering, Sprotte, Zander, Wittling (*Merlangius merlangus*), Aalmutter (*Zoarces viviparus*), Quappe, Plötze (*Rutilus rutilus*), Flußbarsch (*Perca fluviatilis*), Finte (*Alosa fallax*), Scholle (*Pleuronectes platessa*), Steinpicker, Seenadel, Seeskorpion und Kabeljau zusammen.

**Tab. 3.1** Die im Untersuchungsgebiet 10 häufigsten im Fang aufgetretenen Fischarten

Eider		Elbe	
Art	Anz. gefangen und untersucht	Art	Anz. gefangen und untersucht
Flunder ( <i>Platichthys flesus</i> )	9398	Flunder ( <i>Platichthys flesus</i> )	4808
Stint ( <i>Osmerus eperlanus</i> )	7528	Stint ( <i>Osmerus eperlanus</i> )	2149
Wittling ( <i>Merlangius merlangus</i> )	1561	Seezunge ( <i>Solea solea</i> )	1832
Kliesche ( <i>Limanda limanda</i> )	1539	Brassen ( <i>Abramis brama</i> )	353
Stichling ( <i>Gasterosteus aculeatus</i> )	1447	Kaulbarsch ( <i>Gymnocephalus cernua</i> )	158
Seezunge ( <i>Solea solea</i> )	1325	Grundel ( <i>Gobius niger</i> )	122
Scholle ( <i>Pleuronectes platessa</i> )	855	Kliesche ( <i>Limanda limanda</i> )	101
Steinpicker ( <i>Agonus cataphractus</i> )	429	Aal ( <i>Anguilla anguilla</i> )	52
Seeskorpion ( <i>Myoxocephalus scorpius</i> )	242	Rotfeder ( <i>Scardinius erythrophthalmus</i> )	44
Aalmutter ( <i>Zoarces viviparus</i> )	220	Güster ( <i>Blicca björkna</i> )	38

Insgesamt läßt sich feststellen, daß in der Elbe mehr Süßwasserarten im Fang auftraten, was mit den gegenüber der Eider geringeren Salzgehalten der flußaufwärts gelegenen Stationen erklärt werden kann. Auffällig sind die in beiden Flußabschnitten hohen Flunder- und Stintabundanzen. In der Elbe machten Flunder- und Stintfänge 70,6 % am Gesamtfang aus, in der Eider waren es 65,3 %.

Während des Untersuchungszeitraumes konnten Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule (s. 3.1) bei folgenden Fischarten gefunden werden (Tab. 3.2):

**Tab. 3.2** Fischarten, bei denen Hautgeschwürkrankheit (HG) und Flossenfäule (FF) festgestellt wurden; an HG/FF erkr. = Anzahl an Hautgeschwüren und Flossenfäule erkrankte Fische; aufgrund des geringen Stichprobenumfangs sind für die in der Elbe untersuchten Schollen und Zander keine Prozentangaben angeführt

Eider				Elbe			
Art	gesamt	an HG/FF erkr.	% erk.	Art	gesamt	an HG/FF erkr.	% erk.
Flunder >10cm	1669	58	3,5	Flunder >10cm	2606	47	1,8
Kliesche	1539	19	1,2	Brassen	353	4	1,1
Scholle	855	4	0,5	Scholle	20	1	
Stint	7528	4	0,1	Seezunge	1832	1	
				Zander	25	1	

Wie der Tabelle zu entnehmen ist, traten die Hautgeschwürkrankheit und die Flossenfäule im Untersuchungsgebiet überwiegend bei Flundern und anderen Plattfischen auf. Da diese Krankheiten bei Flundern  $\leq 10$  cm nicht beobachtet wurden, ist hier nur der Krankheitsbefall für die Flundern  $> 10$  cm angegeben. Bei den in der Elbe untersuchten Brassen und Zandern traten Fälle von Flossenfäule auf, geschwürkranke Tiere wurden nicht gefunden. Im Gegensatz zur Eider konnte bei Schollen und Seezungen der Elbe Flossenfäule nicht festgestellt werden.

### 3.3.2 Regionale und saisonale Verteilung erkrankter Flundern im Untersuchungsgebiet

#### Regionale Verteilung

Aufgrund der bereits unter 3.3.1 beschriebenen, bezüglich Arten und Abundanzen etwas unterschiedlichen Zusammensetzung der Fischfaunen beider Untersuchungsgebiete ist ein Gesamtvergleich der Befallsraten nicht möglich. Verglichen werden können jedoch die für die Flundern  $> 10$  cm ermittelten Daten. Die Flunder als euryhaliner Fisch war die einzige Art, die in beiden Flußabschnitten auf allen befischten Stationen und in hinreichend großer Zahl auftrat. In Tabelle 3.3 sind die für die Eider- und Elbestationen ermittelten Gesamtfänge/Station, die Flunderfänge und der Anteil erkrankter Flundern  $> 10$  cm jeweils aufsummiert über den gesamten Untersuchungszeitraum angegeben.

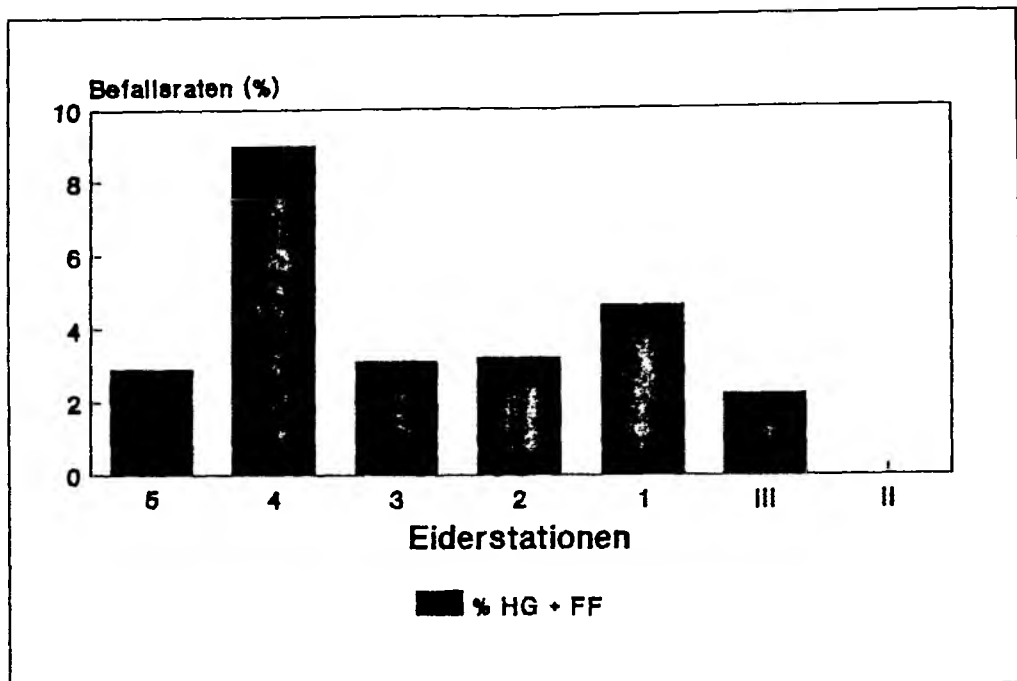
**Tab. 3.3** Gesamtfang und Anzahl gefangener und erkrankter Flundern  $> 10$  cm im Untersuchungszeitraum, HG = Hautgeschwürkrankheit, FF = Flossenfäule

Elbe					Eider				
Station	Fisch gesamt	Flunder gesamt	Flunder $> 10$ cm	Anzahl an HG/FF erk.	Station	Fisch gesamt	Flunder gesamt	Flunder $> 10$ cm	Anzahl an HG/FF erk.
1	986	193	67	1	5	2828	70	70	2
2	2141	350	194	7	4	1715	111	67	6
3	2831	1454	1244	31	3	2613	726	161	5
5	1181	734	447	2	2	2602	1183	346	11
6	1278	1010	259	1	1	7956	2995	626	29
7	1483	1067	395	5	III	4290	2615	228	5
					II	2602	1689	171	0
Summe	9900	4808	2606	47	Summe	24606	9398	1669	58

Aus der Tabelle kann ersehen werden, daß in der Eider mehr geschwürkranke und an Flossenfäule erkrankte Flundern  $> 10$  cm als in der Elbe festgestellt wurden, obgleich in der Elbe mit 2606 gegenüber 1669 in der Eider deutlich mehr Flundern dieser Längengruppe gefangen und untersucht wurden.

In den Abb. 3.15 und 3.16 sind die prozentualen Anteile geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Flundern  $> 10$  cm für die einzelnen Eider- und Elbestationen dargestellt.

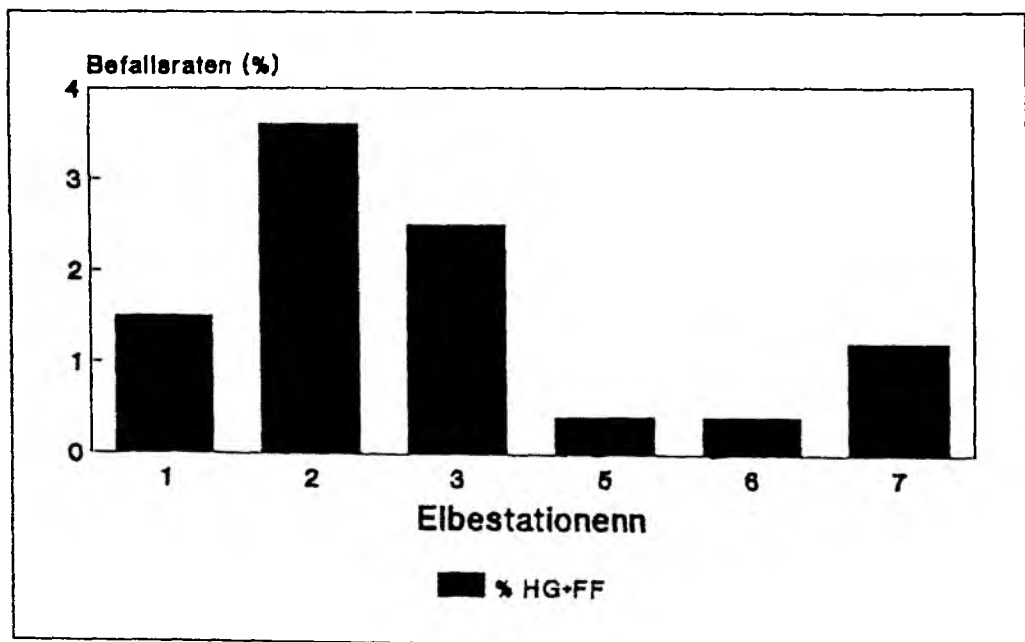
Für die Eider wurden mit 9 % die höchsten Prävalenzen erkrankter Flundern in der Außeneider auf der Station 4 festgestellt. Die Stationen 2, 3 und 5 wiesen mit 3,2%, 3,1% und 2,9% nahezu gleich hohe Befallsraten auf. Mit 4,6 % lag der prozentuale Anteil erkrankter Flundern  $> 10$  cm bei Tönning (Station 1) wieder etwas höher, nahm dann flußaufwärts (Station III) jedoch wieder ab. Vor Friedrichstadt (Station II) wurden keine geschwürkranken oder von Flossenfäule betroffene Flundern gefangen.



**Abb. 3.15** Prozentualer Anteil geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Flundern >10 cm in der Eider, HG = Hautgeschwüre, FF = Flossenfäule

Im Gegensatz zur Eider ließen sich im untersuchten Elbabschnitt insgesamt niedrigere Befallsraten ermitteln (Abb. 3.16). Ein direkter, regionaler Vergleich ist jedoch nicht möglich.

Mit 1,5 - 3,6 % war der Anteil geschwürkranker und an Flossenfäule erkrankter Flundern > 10 cm auf den flußabwärts zwischen Freiburg und Cuxhaven gelegenen Stationen 1 - 3 deutlich höher als zwischen Pagensand und Mühlenberger Loch (Station 5 - 7). Dort wurden Befallsraten zwischen 0,4 und 1,2 % festgestellt. Die höchsten Befallsraten konnten für die Station 2 bei Neufeld ermittelt werden (3,6 %).

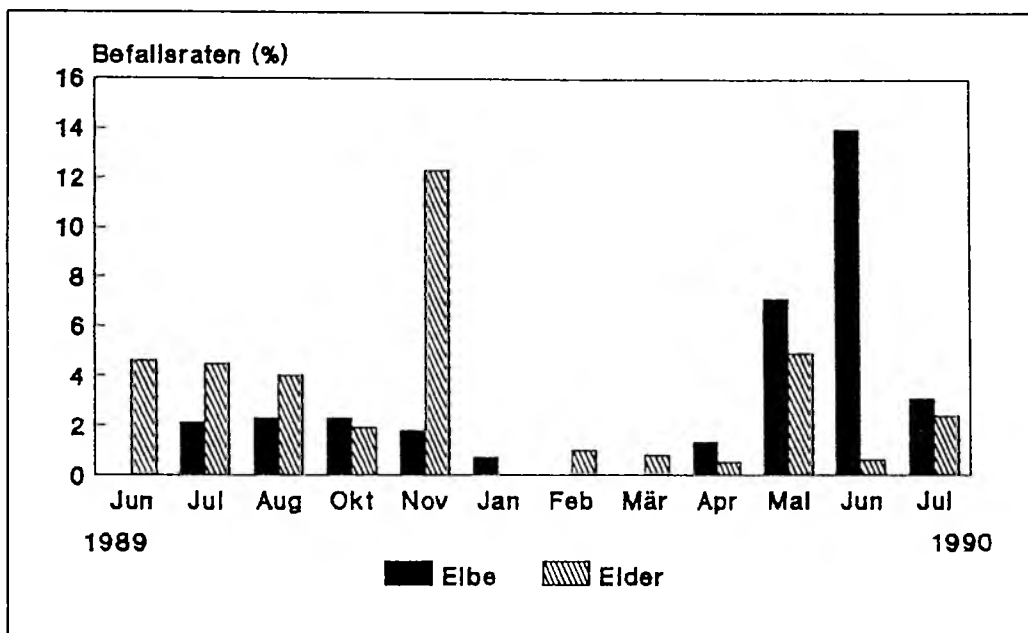


**Abb. 3.16** Prozentualer Anteil geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Flundern >10 cm in der Elbe, HG = Hautgeschwüre, FF = Flossenfäule



### Saisonale Verteilung

In der Abb. 3.17 ist der prozentuale Anteil erkrankter Flundern > 10 cm in Elbe und Eider vergleichend für die einzelnen Monate des Untersuchungszeitraumes dargestellt. Die Prozentangaben beziehen sich dabei auf die einzelnen Monate jeweils über alle Stationen aufsummierten Werte. Es liegen keine Daten vor für die Eider im September '89, Dezember '89 und Januar '90 und für die Elbe im September '89, Dezember '89 und im Februar '90.



**Abb 3.17** Vergleich der Befallsraten (%) geschwürkranker und an Flossenfäule erkrankter Flundern >10cm in Eider und Elbe

In der Eider traten Befallsraten zwischen 0,5 % (April '90) und 12,3 % (November '89) auf. Im Zeitraum Juni - August '89 konnten mit 4,6 %, 4,5 % und 4,0 % nahezu gleichbleibende Prävalenzen festgestellt werden. Während im Oktober ein Rückgang auf 1,9 % zu beobachten war, wurde im November mit 12,3 % die deutlich höchste Befallsrate für die Eider ermittelt. In den Wintermonaten und bis zum April '90 lagen die Werte zwischen 0,5 und 1,0 % wesentlich niedriger. Erst im Mai '90 konnte ein erneuter Anstieg auf 4,9 % beobachtet werden. Auffällig ist der im Juni ermittelte Rückgang auf 0,6 %. Im Juli lag die Befallsrate bei 2,4 %. Im Vergleich zum Vorjahr wurden im Juni und Juli '90 also niedrigere Prävalenzen festgestellt.

Im Vergleich zur Eider ließen sich in der Elbe in den Monaten Juni und August '89 mit 2,1 und 2,3% erkrankten Flundern ein niedrigerer Befall festgestellt werden. Im Oktober wurde mit 2,3 % ein etwas höherer Wert als in der Eider beobachtet. Im November ging die Befallsrate dann jedoch auf 1,8 % zurück, während in der Eider der beschriebene starke Anstieg auf 12,3 % zu beobachten war. Ähnlich wie in der Eider ließen sich auch in der Elbe während der Wintermonate und im Frühjahr die niedrigsten Prävalenzen feststellen. Im März wurden in der Elbe keine kranken Flundern gefangen. Im Mai und Juni war dann ein rapider Anstieg der Befallsraten auf 7,1 % und 14,0 % zu beobachten. Dabei muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß sich dieser hohe, im Juni ermittelte Wert auf einen geringen Stichprobenumfang von n = 43 bezieht.

Zwar war auch in der Eider im Mai '90 ein geringer Anstieg der Prävalenzen zu verzeichnen, im Juni gingen die Werte dort aber auf 0,6 % zurück.

Um einen direkten Vergleich der Befallsraten in Eider und Elbe durchführen zu können, sind in der Tabelle 3.4 die Werte für alle Monate, in denen Daten für beide Flußabschnitte vorliegen, gegenübergestellt:

**Tab. 3.4** Gesamtzahl und Anteil erkrankter Flundern >10 cm in Eider und Elbe, HG/FF erk. - Anzahl geschwürkranker und/oder von Flossenfäule befallener Flundern >10 cm

Monat	Eider			Elbe		
	Flundern >10cm	an HG/FF erk.	% erk.	Flundern >10cm	an HG/FF erk.	% erk.
Jul '89	134	6	4,5	144	3	2,1
Aug '89	101	4	4,0	88	2	2,3
Okt '89	160	3	1,9	385	9	2,3
Nov '89	252	31	12,3	513	9	1,8
Mär '90	253	2	0,8	187	0	0
Apr '90	188	1	0,5	151	2	1,3
Mai '90	81	4	4,9	98	7	7,1
Jun '90	157	1	0,6	43	6	14,0
Jul '90	42	1	2,3	66	2	3,0
gesamt	1368	53	3,9	1675	40	2,4

Wie aus der Tabelle hervorgeht, liegt für beide Flußabschnitte ein ähnlich großer Stichprobenumfang vor, ein Vergleich ist somit möglich.

Für den untersuchten Eiderabschnitt ist dabei mit durchschnittlich 3,9 % eine höhere Befallsrate als im untersuchten Abschnitt der Untere Elbe (2,4 %) festzustellen. Ein nach Wilcoxon (Sachs 1988) durchgeführter Paardifferenzentest zeigte jedoch, daß bei einem Vertrauensbereich von 95 % kein signifikanter Unterschied vorliegt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß im 2. Halbjahr '89 die höheren Prävalenzen geschwürkranker und an Flossenfäule erkrankter Flundern >10 cm mit einem starken Anstieg im November in der Eider zu verzeichnen waren, während in der Elbe besonders im späten Frühjahr und beginnenden Sommer '90 ein Anstieg der Befallsraten ermittelt wurde. In beiden Flußabschnitten konnten während der Sommermonate höhere Befallsraten als in den beprobten Winter- und Frühjahrsmonaten festgestellt werden. Für die Monate des Untersuchungszeitraumes, in denen Daten für beide Flußabschnitte vorliegen, wurden für die Eider die durchschnittlich höheren, allerdings nicht signifikant höheren Prävalenzen errechnet.

### 3.4 Ergebnisse der bakteriologischen Felduntersuchungen

#### 3.4.1 Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule

Aus den Läsionen und dem Blut geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Fische konnten *Vibrio anguillarum*, verschiedene zur *Aeromonas hydrophila*-Gruppe zählende Arten (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*) und in einigen Fällen auch *Pseudomonas fluorescens* isoliert werden.

Die Tabellen 3.5 und 3.6 geben einen Überblick über das Vorkommen dieser Bakterienarten in Fischen der Eider und Elbe. Neben Flundern wurden in der Eider auch 3 erkrankte Klieschen (*Limanda limanda*), 1 Scholle (*Pleuronectes platessa*) und 1 Stint (*Osmerus eperlanus*) untersucht.

**Tab. 3.5** Potentiell fischpathogene Bakterienarten, die aus Eiderfischen isoliert wurden; (HG = Hautgeschwüre; FF = Flossenfäule)

Spezies	Länge (cm)	Station	Symptom	Isoliert aus	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<b>Eider</b>									
Flunder	14	III	HG	Läsion		+			
				Blut					
Flunder	14	1	HG	Läsion	+	+			
				Blut	+	+			
Flunder	17	2	HG	Läsion	+	+			
				Blut	+	+			
Flunder	22	2	HG	Läsion	+	+		+	
				Blut	+			+	
Scholle	26	2	HG	Läsion	+			+	
				Blut	+				
Kliesche	20	2	HG	Läsion	+	+			
				Blut	+				
Flunder	31	2	HG	Läsion	+	+		+	+
				Blut	+	+		+	
Kliesche	17	3	HG	Läsion	+	+			
				Blut	+	+			
Kliesche	17	4	HG	Läsion	+	+		+	
				Blut	+	+			
Flunder	18	III	FF	Läsion	+	+			
Flunder	15	1	FF	Läsion	+	+			+
				Blut	+	+			+
Stint	20	1	FF	Läsion	+			+	+
				Blut	+				

Wie den Tabellen zu entnehmen ist, wurden in allen untersuchten Fischen mit Hautgeschwüren und Flossenfäule Aeromonaden der *Aeromonas hydrophila*-Gruppe nachgewiesen. Dabei ließ sich *Aeromonas hydrophila* aus 23 und *Aeromonas caviae* aus 21 von 27 untersuchten Tieren isolieren. *A. hydrophila* konnte gleichzeitig in den Läsionen und im Blut erkrankter Fische festgestellt werden. Bei allen anderen Bakterienarten war das Auftreten in den Läsionen hingegen nicht immer mit einem positiven Nachweis im Blut verbunden. *Aeromonas sobria* ließ sich im Abstrich einer Elbflunder feststellen.

*Vibrio anguillarum* wurde aus 6 geschwürkranken Flundern und einer geschwürkranken Scholle, einer Kliesche und einem Stint isoliert. Insgesamt konnte *V. anguillarum* bei 8 der 13 geschwürkranken Tiere in den Läsionen und bei 4 Tieren auch im Blut festgestellt werden. Außerdem wurde diese Bakterienart auch aus 2 an Flossenfäule erkrankten Tieren isoliert.

**Tab. 3.6** Potentiell fischpathogene Bakterienarten, die aus Elbfischen isoliert wurden, HG = Hautgeschwüre, FF = Flossenfäule, o.K. = ohne äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen

Spezies	Länge (cm)	Station	Symptom	Isoliert aus	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<b>Elbe</b>									
Flunder	24	2	HG	Läsion		+		+	
				Blut					
Flunder	19	3	HG	Läsion	+	+			
				Blut	+				
Flunder	13	3	HG	Läsion	+	+		+	
Flunder	17	3	HG	Läsion	+	+		+	
				Blut	+	+			
Flunder	24	3	HG	Läsion	+				+
				Blut	+	+			+
Flunder	21	7	HG	Läsion	+			+	
				Blut	+	+		+	
Flunder	15	2	FF	Läsion	+		+		+
				Blut	+				
Flunder	10	3	FF	Blut	+	+			
Flunder	15	3	FF	Läsion	+				
Flunder	18	3	FF	Läsion	+	+			
				Blut	+	+			
Flunder	23	3	FF	Läsion	+	+			+
				Blut	+	+			+
Flunder	22	7	FF	Läsion	+	+			
				Blut	+				
Flunder	42	7	FF	Läsion	+	+		+	+
				Blut	+				+
Flunder	21	3	o.K.	Blut					
Flunder	20	5	o.K.	Blut					

*Pseudomonas fluorescens* konnte in den Läsionen zweier geschwürkranker Flundern, sowie 5 von Flossenfäule befallenen Fischen nachgewiesen werden. In 4 Fällen trat diese Bakterienart auch im Blut auf.

### 3.4.2 Bakterielle Belastung des Wassers und Sediments im Untersuchungsgebiet

Im folgenden sind die ermittelten Gesamtbakterien- und Saprophytenzahlen sowie die Zahlen potentiell pathogener Bakterien aufgeführt, die im Wasser und im Sediment des Untersuchungsgebietes festgestellt wurden.

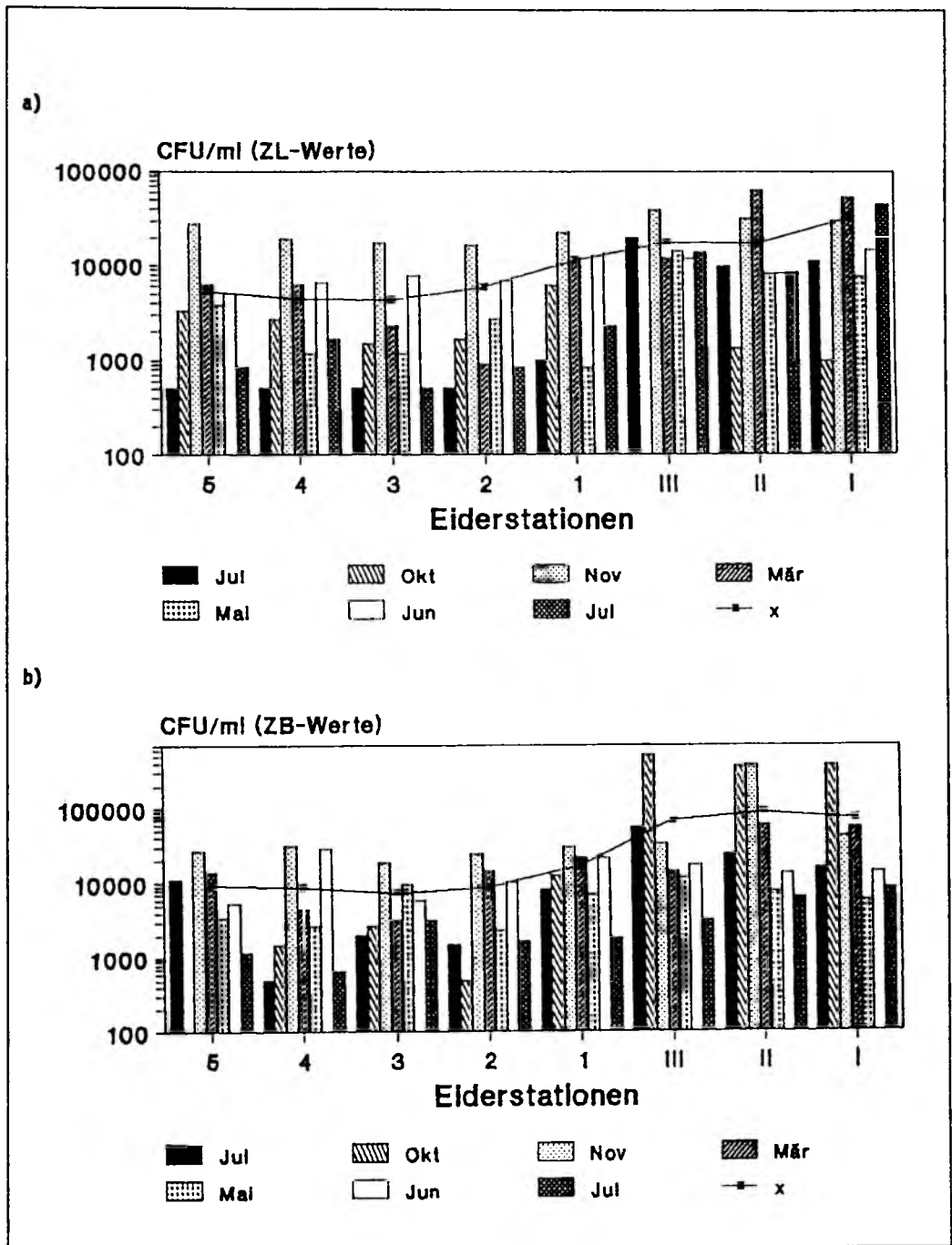
#### Saprophytenzahlen

Die auf ZL- (ZoBell-Leitungswasser-) und ZB- (ZoBell-Brackwasser-) Agar ermittelten Saprophytenzahlen können für ausgewählte Monate den Abbildungen 3.18 und 3.19 entnommen werden.

Aus Wasserproben der Eider wurden auf dem ZL-Medium zwischen 500 (Stationen 5, 4, 3, 2, im Juli '89) und 113300 CFU/ml (Station I im April '90) ermittelt. Keine Zahl liegt für Oktober '89 (Station III) vor. Der für den Untersuchungszeitraum höchste Durchschnittswert konnte für die am weitesten flußaufwärts gelegene Vergleichsstation Eider I mit 32700 CFU/ml festgestellt werden. Flußabwärts war eine deutliche Abnahme der Saprophytenzahlen zu verzeichnen. In der Außeneider wurden im Mittel Konzentrationen zwischen 4200 (Station 3) und 5300 (Station 5) CFU/ml und damit um das drei- bis vierfach niedrigere Zahlen als vergleichsweise bei Friedrichstadt (Station II) gefunden. Im jahreszeitlichen Verlauf konnten die durchschnittlich höchsten Zahlen für den gesamten Untersuchungsabschnitt der Eider im November '89 (25400 CFU/ml), im März (19300 CFU/ml) und im April '90 (23000 CFU/ml) festgestellt werden.

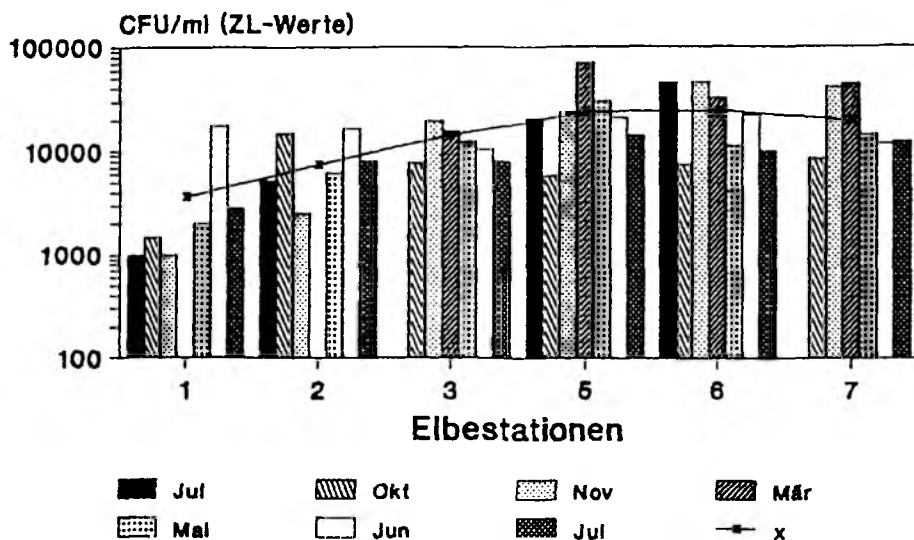
Generell wurden auf dem ZB-Medium deutlich höhere Saprophytenzahlen als auf dem ZL-Medium ermittelt. Die Koloniezahlen schwankten zwischen 700 (Station 4 im Juli '90) und 510700 CFU/ml (Station III im Oktober

'89). Mit durchschnittlich 87400 CFU/ml ließ sich der höchste Wert bei Friedrichstadt feststellen. Oberhalb von Tönning lagen die Saprophytenzahlen auf den Stationen III, II und I deutlich höher als im übrigen Teil des Untersuchungsgebietes. Auffällig sind die für diese Stationen im Oktober (367000 CFU/ml Station II) und vor allem November (352000 - 510700 CFU/ml) ermittelten, hohen Abundanzen. Kein Wert liegt im Oktober '89 für die Station 5 vor.



**Abb. 3.18** Saprophytenzahlen der Eiderstationen: a) auf ZL (Zobell - Leitungswasser)-Agar ermittelte Zahlen, b) auf ZB (Zobell - Brackwasser) - Agar ermittelte Zahlen (jeweils für 7 ausgewählte Monate), x - Stationsmittelwerte

a)



b)

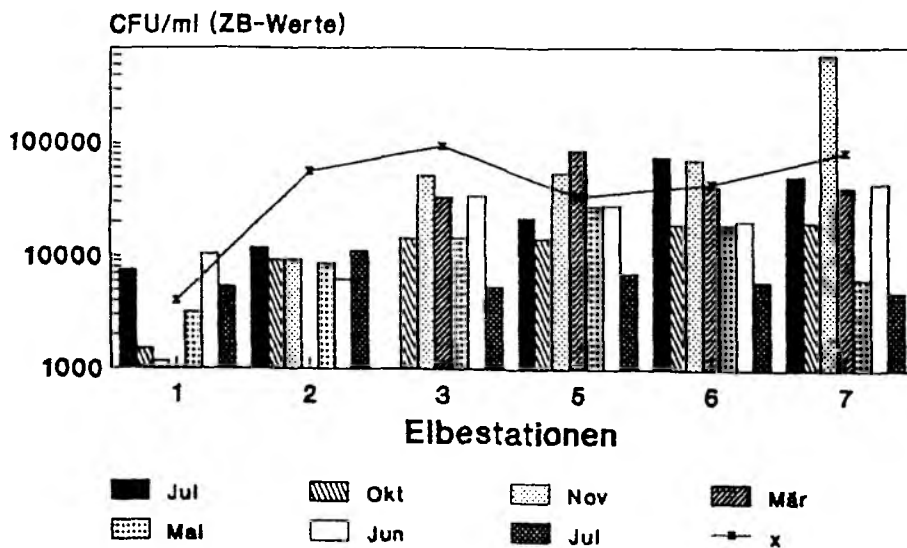


Abb. 3.19 Saprophytenzahlen der Elbestationen: a) auf ZL (ZoBell-Leitungswasser) - Agar ermittelte Zahlen, b) auf ZB (ZoBell-Brackwasser) - Agar ermittelte Saprophytenzahlen (jeweils für 7 ausgewählte Monate), x - Stationsmittelwerte

Ähnlich wie in der Eider war auch in der Elbe seewärts eine deutliche Abnahme der auf ZL-Agar ermittelten Koloniezahlen zu erkennen, wobei mit 24400 CFU/ml bei Stade (Station 6) im Durchschnitt noch höhere Werte als im Mühlenberger Loch (Station 7) bestimmt wurden. Vor Cuxhaven konnten mit durchschnittlich 3700 CFU/ml gegenüber Stade hingegen um das 6-7-fach geringere Zahlen ermittelt werden (Abb. 3.19). Die bestimmten Koloniezahlen lagen zwischen 1000 (November '89, Station 1) und 70300 CFU/ml (März '90, Station 5). Hohe Werte wurden generell im November und vor allem im März festgestellt. Mit durchschnittlich 40700 CFU/ml ließen sich in diesem Monat 2-4 mal höhere Zahlen als im übrigen Zeitraum feststellen. Keine Daten liegen im Juli '89 für die Stationen 3 und 7, im März '90 für die Station 1, im April '90 für die Stationen 1 und 2 vor.

Auf ZB-Medium wurden mit 51800 CFU/ml im Mittel deutlich höhere Zahlen als auf ZL-Medium (15500 CFU/ml) für das Untersuchungsgebiet Elbe feststellen (Abb. 3.19b). Die Koloniedichten lagen zwischen 1200 (November '89, Station 1) und 591700 CFU/ml (November '89, Station 7). Die durchschnittlich höchsten Zahlen wurden mit 93500 und 81600 CFU/ml für die Stationen 3 (Freiburg) und 7 (Mühlenberger Loch) bestimmt. In einigen Monaten, wie z.B. im November '89, konnte stromabwärts eine kontinuierliche Abnahme der auf ZB-Agar ermittelten Saprophytenzahlen festgestellt werden. Über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet ergibt sich jedoch ein anderes Bild. So wurden für die Stationen 5 und 6 mit 22700 und 29000 CFU/ml im Mittel sehr viel niedrigere Zahlen als für die Stationen 2 und 3 (135000 und 183500 CFU/ml) bestimmt. Keine Daten liegen im Juli '89 für die Station 3, im März für die Station 1 und im April '90 für die Stationen 1 und 2 vor.

Im Vergleich zwischen Eider und Elbe konnten im Untersuchungszeitraum sowohl auf dem ZL-Medium als auch auf dem ZB-Medium die durchschnittlich niedrigeren Saprophytenzahlen in der Eider festgestellt werden (12400 gegenüber 15500 CFU/ml und 35200 gegenüber 51800 CFU/ml). Hohe Zahlen wurden in beiden Flußabschnitten im Oktober/November '89 und im März '90 festgestellt. Generell konnten die höchsten Zahlen für die am weitesten flußaufwärts gelegenen Stationen ermittelt werden. Flußabwärts kommt es dann offenbar durch Verdünnungseffekte zu einer deutlichen Abnahme der Saprophytenzahlen. Auffallend sind die für viele Stationen zu beobachtenden starken monatlichen Schwankungen, die neben den jahreszeitlich bedingten Veränderungen vermutlich auch durch den Tideneinfluß und durch Witterungsbedingungen verursacht wurden.

### Gesamtbakterienzahlen

Im Eiderabschnitt wurden Gesamtbakterienzahlen (GBZ) zwischen  $1,14 \times 10^6$  Bakterien/ml (November '89, Station 5) und  $8,15 \times 10^6$  Bakterien/ml (Oktober '89, Station II) festgestellt (Abb. 3.20). Die durchschnittlich höchste Bakteriendichte wurde mit  $4,43 \times 10^6$  Bakterien/ml bei Friedrichstadt (Station II), ähnlich hohe Zahlen mit  $3,79$  und  $3,86 \times 10^6$  Bakterien/ml für die benachbarten Stationen I und III ermittelt. Flußabwärts konnte ein langsamer Rückgang der Gesamtbakterienzahlen festgestellt werden. Gemittelt über alle Stationen wurden hohe Zahlen im Oktober '89 ( $4,04 \times 10^6$  Bakterien/ml) und im März '90 ( $3,60 \times 10^6$  Bakterien/ml) gefunden. Keine Daten liegen im Juli '89 für die Stationen III, II und I vor.

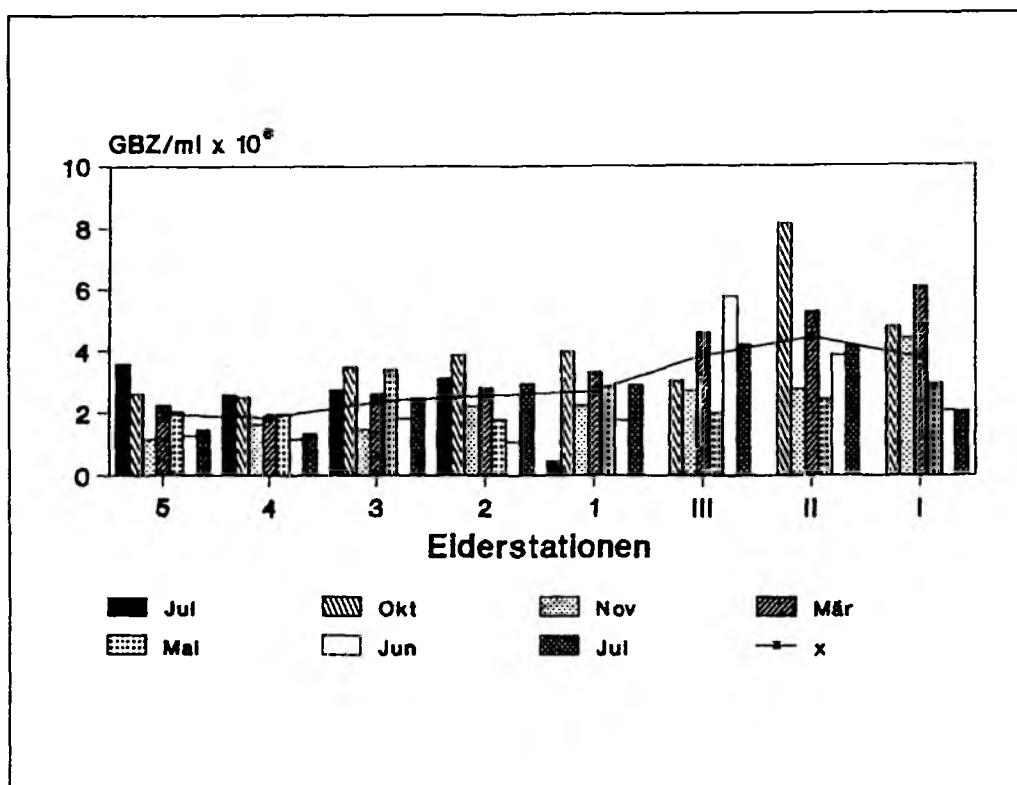


Abb. 3.20 Gesamtbakterienzahlen (GBZ) der Eiderstationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

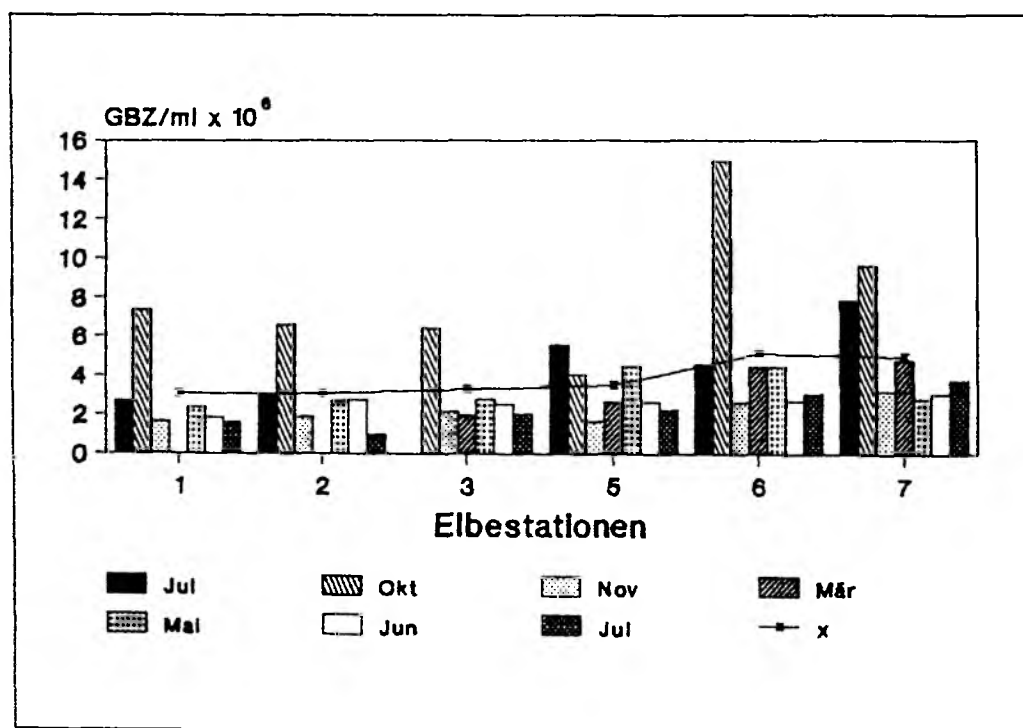


Abb. 3.21 Gesamtbakterienzahlen (GBZ) der Elbestationen (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte



Für die Elbe wurden Gesamtbakterienzahlen zwischen  $0,96$  (Juli '90, Station 2) und  $14,93 \times 10^6$  Bakterien/ml (Oktober '89, Station 6) bestimmt (Abb. 3.21). Insgesamt gingen die GBZ stromabwärts zurück. Bei Stade (Station 6) wurden im Mittel  $5,11 \times 10^6$  Bakterien/ml bestimmt. Für die Station 1 ließen sich durchschnittlich nur noch  $3,04 \times 10^6$  Bakterien/ml feststellen. Die jahreszeitlich höchsten Zahlen konnten mit  $8,16 \times 10^6$  Bakterien/ml (Mittel über alle Stationen) im Oktober '89 bestimmt werden. Für den Zeitraum November '89 - Juli '90 wurden hingegen deutlich niedrigere GBZ festgestellt ( $2,19$  im November '89 -  $3,44 \times 10^6$  Bakterien/ml März '90). Keine Daten liegen vor im Juli '89 (Station 3) und im März '90 (Stationen 1 und 2) sowie im April '90 (Station 1).

Mit  $3,82 \times 10^6$  Bakterien/ml ließen sich im untersuchten Elbabschnitt gegenüber  $2,93 \times 10^6$  Bakterien/ml in der Eider durchschnittlich (Mittel über alle Stationen und über den gesamten Untersuchungszeitraum) nur unwesentlich höhere Gesamtbakterienzahlen ermitteln. Ähnlich wie für die Saprophytenzahlen, jedoch mit einem geringer ausgeprägten Gradienten, konnte in beiden Flußabschnitten eine Abnahme der GBZ flußabwärts beobachtet werden. Die durchschnittlich höchsten Zahlen wurden jeweils im Oktober '89 bestimmt.

#### Potentiell fischpathogene Bakterien

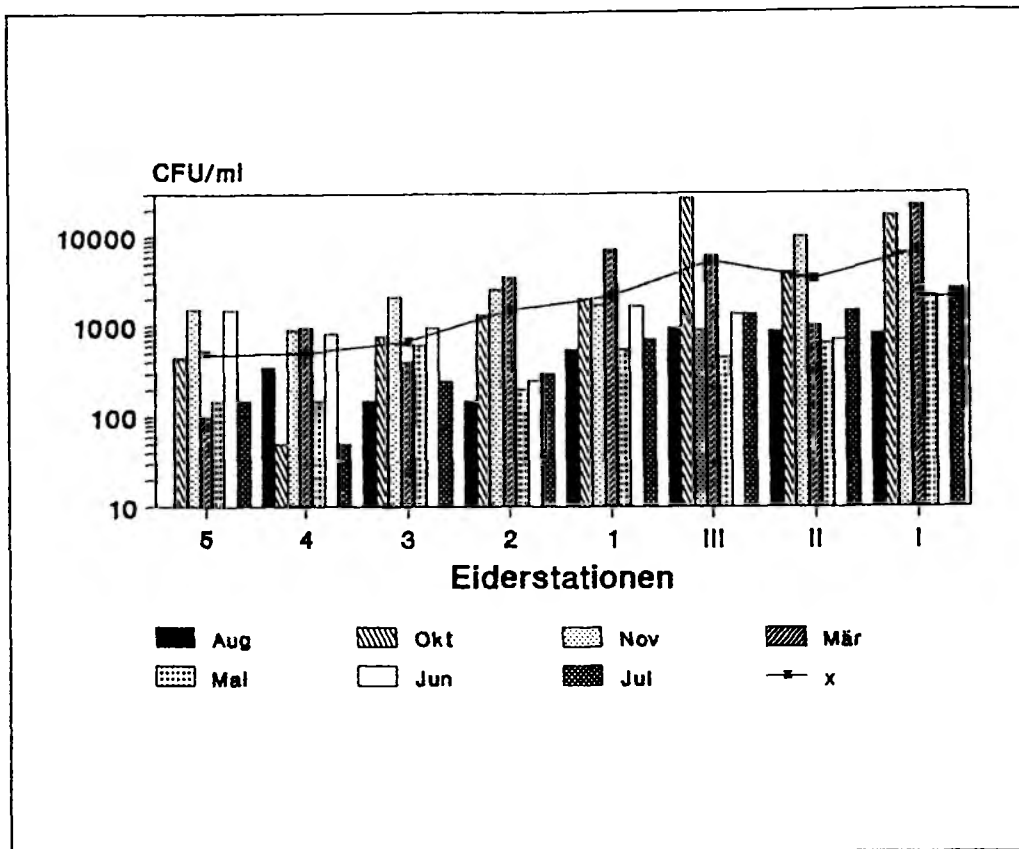
Im folgenden wird auf die Quantifizierung der aus dem Wasser und dem Sediment des Untersuchungsgebietes isolierten *Aeromonas*- und *Vibrio*-Arten eingegangen. Wie unter 3.3.1 beschrieben, konnten aus den Läsionen und dem Blut geschwürkranker und an Flossenfäule erkrankter Flundern die zur "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe zählenden Bakterienarten *A. hydrophila*, *A. caviae* und *A. sobria* und desweiteren auch *Vibrio anguillarum* isoliert werden. Die Ergebnisse sollen zeigen, inwieweit diese Arten auch im umgebenden Milieu vorhanden waren und ob eine Beziehung zwischen der Dichte potentieller Erreger und dem Auftreten der bakteriellen Fischkrankheiten feststellbar war.

#### "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe

In den Abb. 3.22 und 3.23 sind alle zur Gruppe der motilen Aeromonaden -es wurden sowohl *A. hydrophila* als auch *A. caviae* und *A. sobria* nachgewiesen- zählenden Bakterienarten als "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe zusammengefaßt.

In der Eider schwankten die Koloniezahlen zwischen  $50$  (Juli '89, Station 2) und  $21700$  (März '90, Station I) Kolonien/ml Wasserprobe (Abb. 3.22). Die für die einzelnen Stationen gemittelten Zahlen zeigen flußaufwärts, also mit abnehmendem Salzgehalt, einen Anstieg der *Aeromonas*-Zahlen an. So wurden für die am weitesten seewärts gelegene Station 5 durchschnittlich  $480$  Kolonien/ml ermittelt, für die am weitesten flußaufwärts gelegene Station I jedoch  $6760$  Kolonien/ml. Bei Friedrichstadt (Station II) konnten im Mittel weniger Aeromonaden festgestellt werden, als für die weiter flußabwärts gelegenen Station III.

Gemittelt über alle Stationen ergaben sich die höchsten Zahlen im März ( $6380$  Kolonien/ml) und April '90 ( $5090$  Kolonien/ml). Besonders in den Sommermonaten wurden mit  $850$  -  $2300$  Kolonien/ml deutlich geringere Zahlen ermittelt. Im August '89 liegt kein Wert für die Station 5 vor.



**Abb. 3.22** "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen im Wasser der Eider (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

In der Elbe ließen sich Zellzahlen zwischen 150 (August '89, Station 2) und 26500 (März '90, Station 7) Kolonien/ml (Abb. 3.23) feststellen. Ähnlich wie in der Eider war auch hier stromaufwärts eine Zunahme der *Aeromonas*-Zahlen zu verzeichnen. So wurden vor Cuxhaven (Station 1) durchschnittlich 1240 Kolonien/ml, im Mühlenberger Loch (Station 7) 4780 Kolonien/ml ermittelt. Die im jahreszeitlichen Verlauf höchsten Koloniezahlen konnten im März '90 beobachtet werden (13690 Kolonien/ml).

Die Anzahl motiler Aeromonaden wurde auch aus Wasserproben der unter 2.2.1 angeführten, oberhalb Hamburgs gelegenen Vergleichsstationen VI (Geesthacht), IV (Krümmel) und I (Lauenburg) bestimmt. Mit einem während des Untersuchungszeitraumes festgestellten Mittelwert von 10220 Kolonien/ml wurden in diesem Bereich der Elbe deutlich höhere Zahlen als im vorher beschriebenen unteren Elbabschnitt ermittelt (s. Abb. 3.23). Auch für diesen oberhalb Hamburgs gelegenen Untersuchungsabschnitt konnten die im jahreszeitlichen Verlauf höchsten Zahlen im März '90 (28070 Kolonien/ml) festgestellt werden. Mit 11350 und 13750 Kolonien/ml wurden jedoch auch im August '89 und im Mai '90 hohe Zahlen im Vergleich zum übrigen Untersuchungszeitraum ermittelt.

Keine Daten liegen für August '89 (Station 3), November '89 (Vergleichsstationen VI, IV und I), März '90 (Station 1, 2) und April '90 (Station 1) vor.

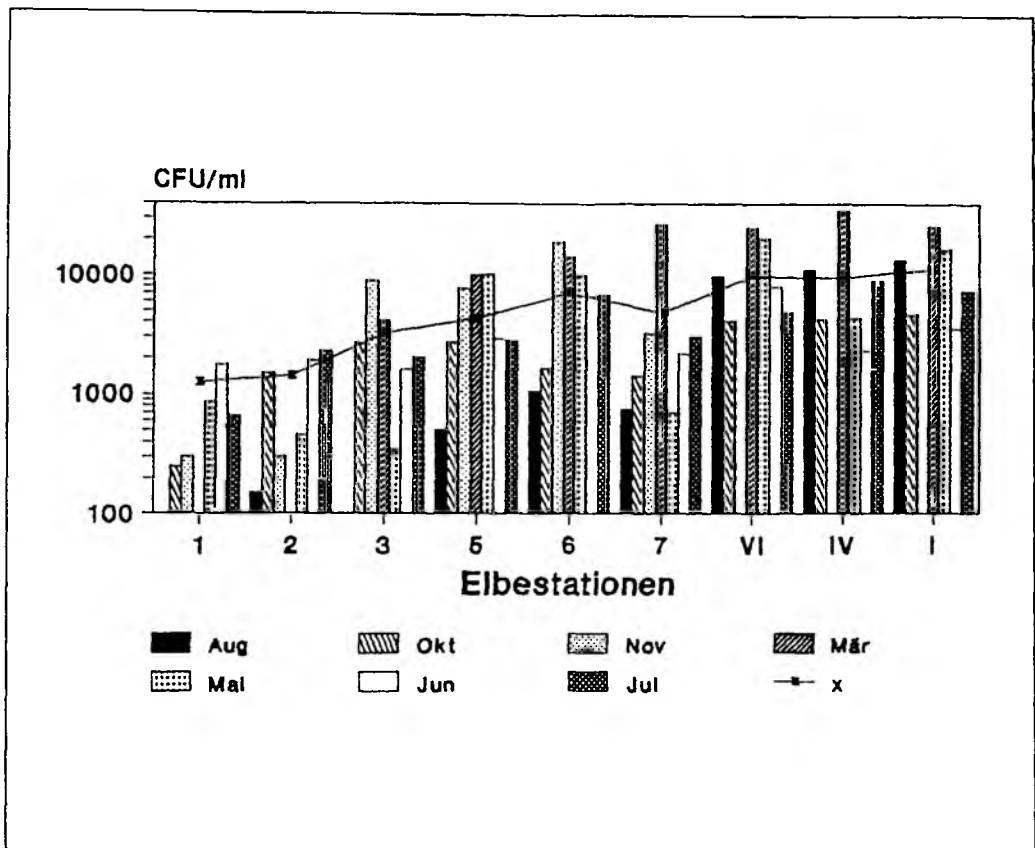


Abb. 3.23 "*Aeromonas hydrophila*"- Zahlen im Wasser der Elbe (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Insgesamt wurden im Untersuchungszeitraum in der Elbe (4110 Kolonien/ml) die gegenüber der Eider (2500 Kolonien/ml) höheren Zahlen motiler *Aeromonaden* bestimmt.

Wie aus den Abb. 3.24 und 3.25 zu entnehmen ist, lagen die pro  $\text{cm}^3$  Sediment ermittelten *Aeromonas*-Zahlen im untersuchten Eider- und Elbeabschnitt deutlich über denen pro ml der entsprechenden Wasserproben ermittelten Koloniezahlen. Dabei wurden in der Eider im Untersuchungszeitraum mit 43970 Kolonien/ $\text{cm}^3$  Sediment (Mittel über alle Stationen) gegenüber der Elbe mit 40230 Kolonien/ $\text{cm}^3$  im Durchschnitt ähnlich hohe Zahlen bestimmt. Damit liegen die im Sediment vorgefundenen *Aeromonas*-Zahlen in der Eider um das ca. 20-fache, in der Elbe um das ca. 10-fache höher als im Wasser.

In der Eider konnten Abundanzen zwischen 250 (Oktober '89, Station 5) und 242750 Kolonien/ $\text{cm}^3$  (Mai '90, Station I) ermittelt werden. Entsprechend den im Wasser vorgefundenen Verhältnissen war flussaufwärts eine kontinuierliche Zunahme der *Aeromonas*-Zahlen im Sediment festzustellen. So wurden für die am weitesten seewärts gelegene Station 5 durchschnittlich 19800 Kolonien/ $\text{cm}^3$ , für die am weitesten flussaufwärts gelegene Station I durchschnittlich 94350 Kolonien/ $\text{cm}^3$  bestimmt. Die im jahrezeitlichen Verlauf höchsten Zahlen konnten im Oktober '89 (73200 Kolonien/ $\text{cm}^3$ ), im März '90 (59900 Kolonien/ $\text{cm}^3$ ) und im Mai '90 (69400 Kolonien/ $\text{cm}^3$ ) ermittelt werden.

Im August '89 und März '90 liegen keine Zahlen für die Station 2 vor.

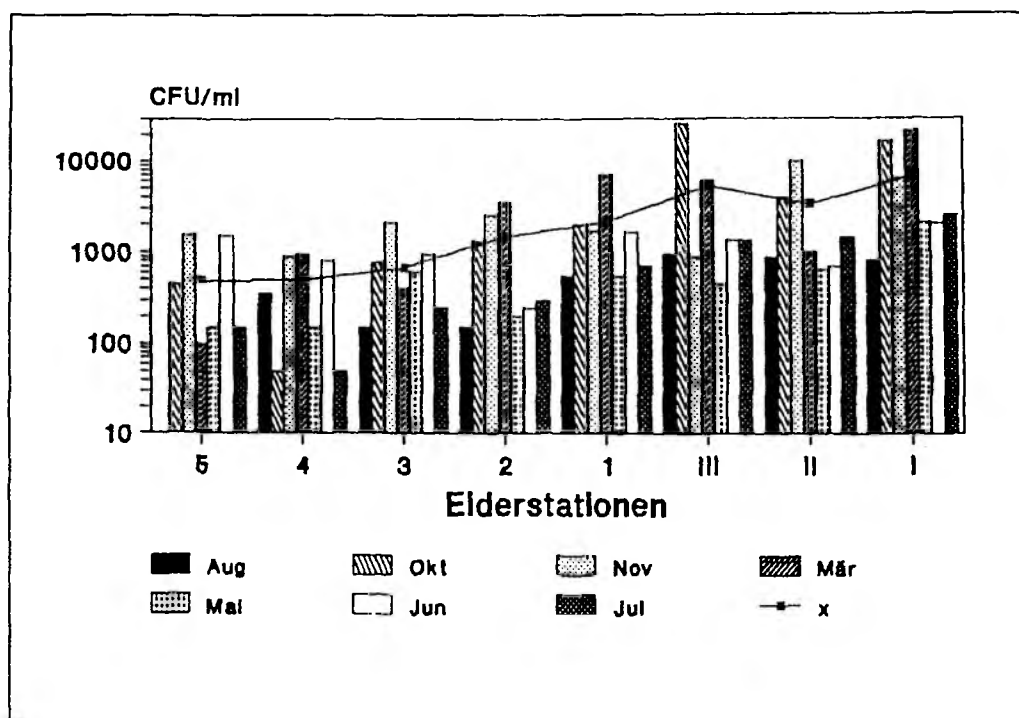


Abb. 3.24 "*Aeromonas hydrophila*"- Zahlen pro  $\text{cm}^3$  Sediment in der Eider (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

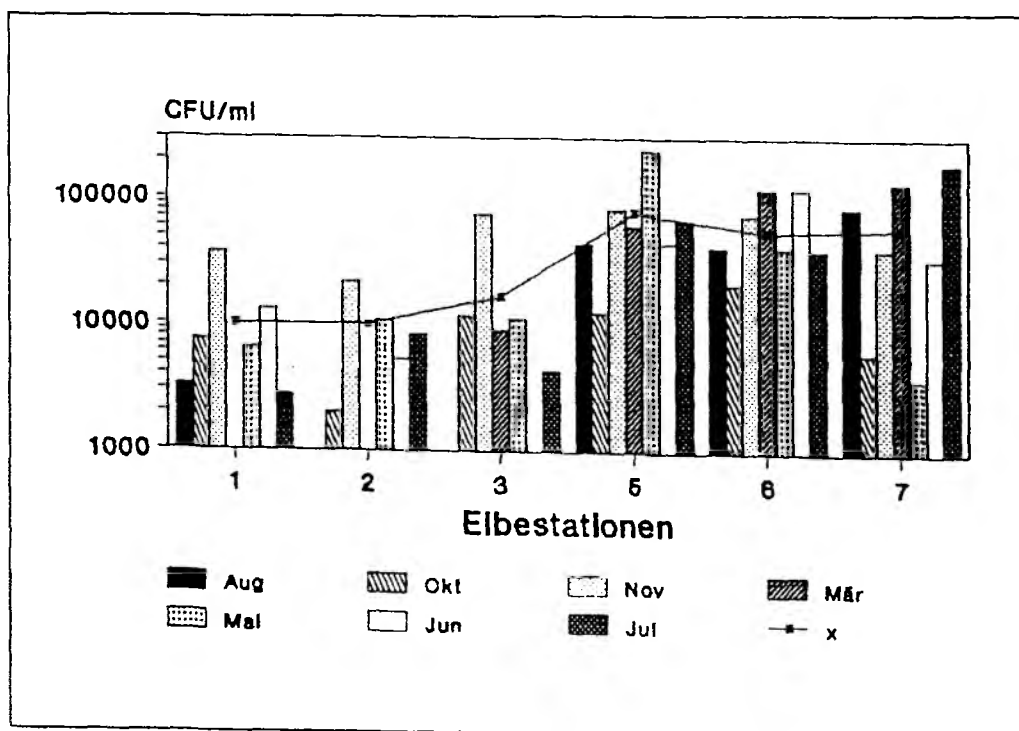


Abb. 3.25 "*Aeromonas hydrophila*"- Zahlen pro  $\text{cm}^3$  Sediment (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

In der Elbe wurden zwischen 250 (Juli '89, Station 1) und 238000 motile *Aeromonaden*/cm<sup>3</sup> Sediment bestimmt (Abb. 3.25). Die durchschnittlich höchsten Zahlen konnten jedoch nicht wie in der Eider für die am weitesten flußaufwärts gelegene Station 7, sondern für die vor Pagensand gelegene Station 5 ermittelt werden (78000 Kolonien/cm<sup>3</sup>). Auffällig ist der sprunghafte Rückgang zwischen den flußaufwärts gelegenen Stationen 5, 6, und 7 und den elbabwärts gelegenen Stationen 1, 2 und 3. So gehen die Zahlen zwischen Pagensand (Station 5) und Freiburg (Station 3) von durchschnittlich 78000 auf 16600 Kolonien/cm<sup>3</sup> zurück.

Wie in der Eider wurden auch im untersuchten Elbabschnitt hohe Durchschnittswerte im März (80400 Kolonien/cm<sup>3</sup>) und Mai '90 (51900 Kolonien/cm<sup>3</sup>) festgestellt.

Keine Daten liegen im März für die Stationen 1 und 2, sowie im April '90 für die Station 1 vor.

### *Vibrio anguillarum*

Gegenüber den "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen wurden deutlich niedrigere *Vibrio anguillarum*-Zahlen im Wasser des Untersuchungsgebietes gefunden. Mit durchschnittlich 480 Kolonien/ml ließen sich dabei in der Elbe mehr als doppelt so hohe Zahlen wie in der Eider (203 Kolonien/ml) bestimmen.

Im Flußverlauf der Eider konnte keine kontinuierliche Zu- oder Abnahme der *V. anguillarum*-Konzentrationen festgestellt werden (Abb. 3.26). Nur für die bei Tönning gelegene Station 1 wurden mit 340 Kolonien/ml höhere Durchschnittszahlen als für die übrigen Stationen ermittelt. Dieses ist jedoch im wesentlichen nur auf eine im November '89 dort ermittelte Zahl von 2950 Kolonien/ml zurückzuführen. Für die am weitesten seewärts gelegene Station 5 wurden mit durchschnittlich 105 Kolonien/ml die niedrigsten *V. anguillarum*-Zahlen festgestellt.

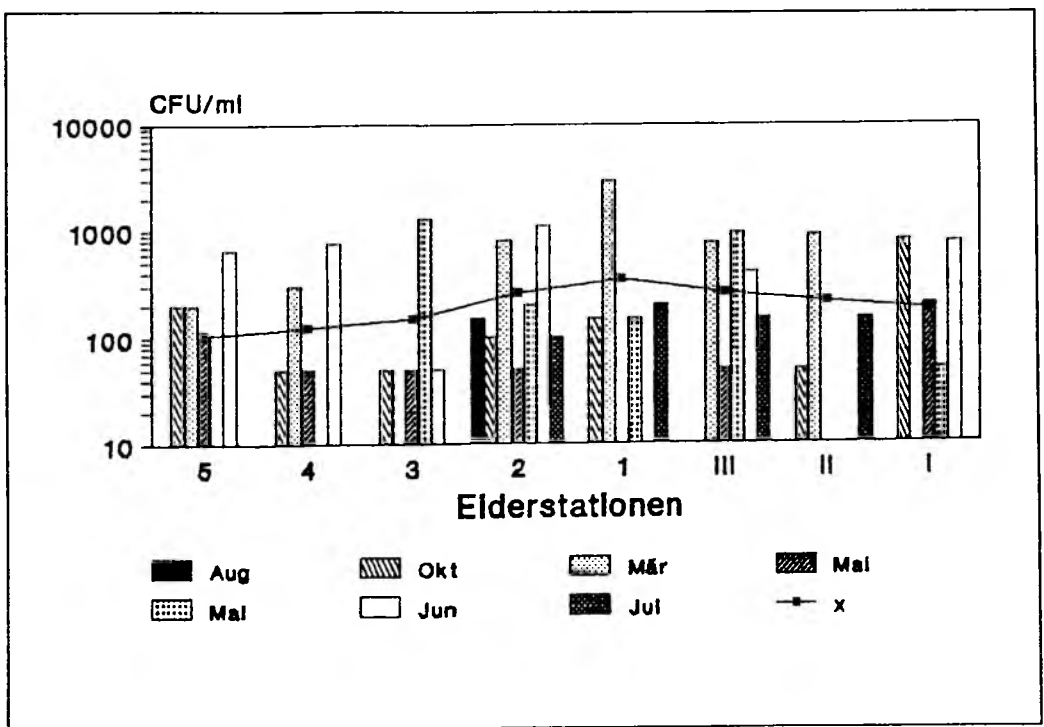


Abb. 3.26 *Vibrio anguillarum* - Zahlen pro ml Wasser der Eider (7 ausgewählte Monate), x - Stationsmittelwerte

Häufig konnte *V. anguillarum* -zumindest mit der angewandten Methode- nicht nachgewiesen werden. Insgesamt wurden im untersuchten Eiderabschnitt zwischen 0 und 2950 Kolonien/ml festgestellt. Im jahreszeitlichen Verlauf ließen sich die höchsten Zahlen im November '89 (780 Kolonien/ml ), sowie im Mai und Juni '90 (331 und 436 Kolonien/ml ) ermitteln.

Auffallend ist, daß *V. anguillarum* auch an der weit flußaufwärts im Süßwasserbereich der Eider gelegenen Station I nachgewiesen werden konnte, obgleich *V. anguillarum* als Brack-und Seewasserbakterium auf eine Mindestkonzentration NaCl angewiesen ist. Kein Wert liegt im Juli '90 für die Station I vor.

In der Elbe schwankten die für die einzelnen Stationen über den Untersuchungszeitraum gemittelten Dichten zwischen 156 (Station 1) und 841 Kolonien/ml (Station 7) . Es wurden Zahlen von 0 - 7100 Kolonien/ml (Station 7) vorgefunden. Eine kontinuierliche Zu- oder Abnahme der Zahlen im Flußverlauf konnte nicht festgestellt werden (Abb 3.27). Wie im untersuchten Eiderabschnitt wurde *V. anguillarum* auch in der Unterelbe während des Untersuchungszeitraumes häufig nicht nachgewiesen.

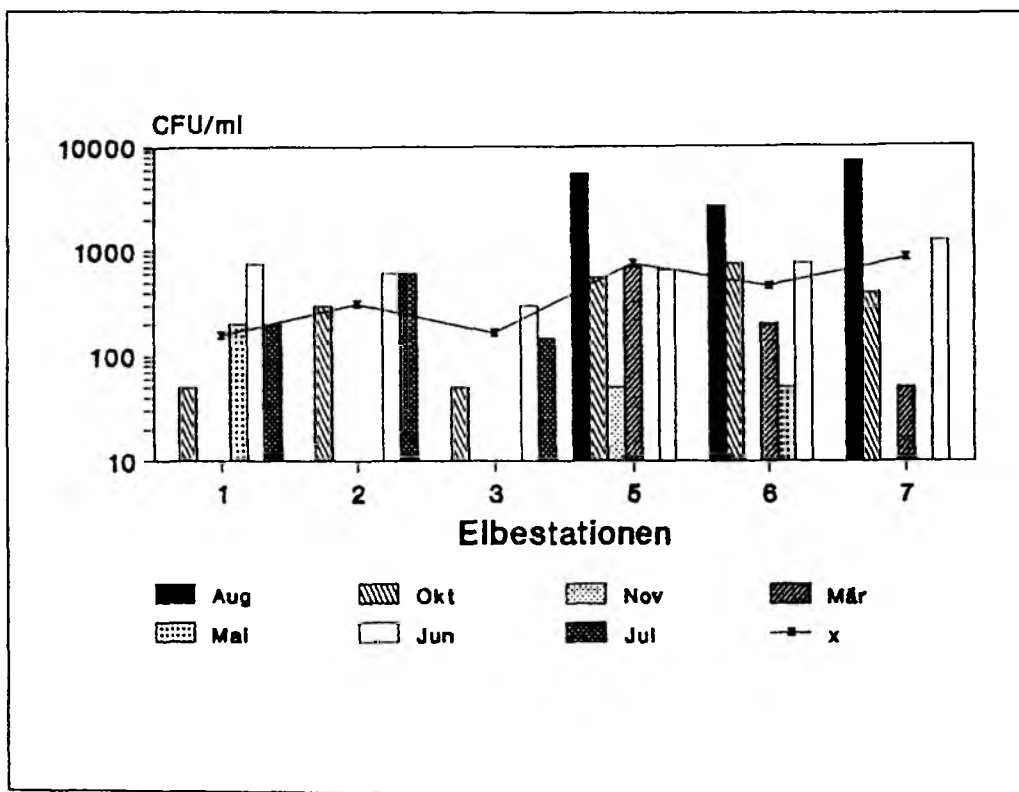


Abb. 3.27 *Vibrio anguillarum* pro ml Wasser der Elbe (7 ausgewählte Monate), x = Stationsmittelwerte

Im jahreszeitlichem Verlauf ergibt sich im Vergleich zur Eider für die Elbe ein anderes Bild. So wurden an den Stationen 5, 6, und 7 im August '89 sehr hohe Werte festgestellt (5500, 2650 und 7100 Kolonien/ml ). Im November '89 konnten in der Elbe die durchschnittlich niedrigsten, in der Eider hingegen die höchsten *V. anguillarum*-Zahlen ermittelt werden. Ansteigende Zahlen ließen sich für beide Flußabschnitte im Juni '90 feststellen. In den Wasserproben der oberhalb Hamburgs gelegenen Stationen VI, IV und I wurde *V. anguillarum* im Untersuchungszeitraum nicht nachgewiesen.

Keine Daten liegen im August '89 für die Station 3, im März '90 für die Stationen 1 und 2, sowie im April '90 für die Station 1 vor.

Entsprechend den "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen konnten auch für *Vibrio anguillarum* im Sediment deutlich höhere Zahlen als im Wasser des Untersuchungsgebietes gefunden werden. Die höheren Dichten wurden wiederum in der Eider festgestellt (durchschnittlich 3770 Kolonien/cm<sup>3</sup> Sediment gegenüber 2335 in der Elbe). Damit lagen die pro cm<sup>3</sup> im Sediment nachgewiesenen *V. anguillarum*-Zahlen in der Eider um ca. das 19-fache, in der Elbe um ca. das 5-fache höher als die pro ml Wasserprobe bestimmten Zahlen.

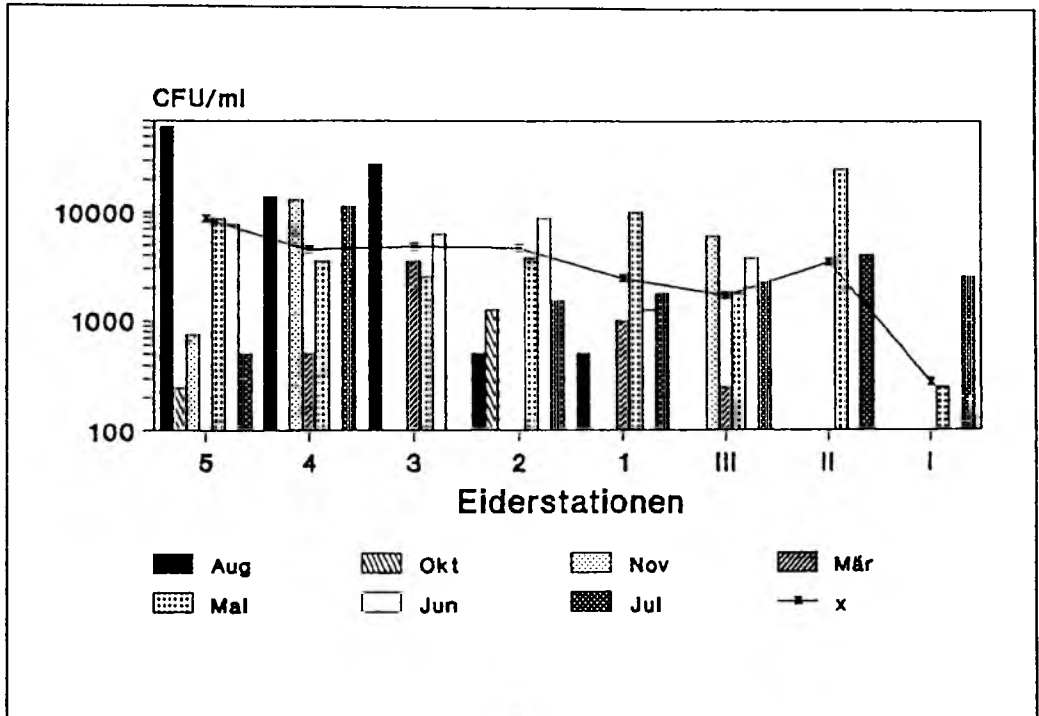


Abb. 3.28 *Vibrio anguillarum* - Zahlen pro cm<sup>3</sup> Sediment der Eider (7 ausgewählte Monate), x - Stationsmittelwerte

In der Eider ließen sich zwischen 0 und 61250 Kolonien/cm<sup>3</sup> (August '89, Station 5) feststellen (Abb. 3.28). Im Jahresmittel konnten in der Außeneider mit 4530 (Station 4) - 8750 Kolonien/cm<sup>3</sup> (Station 5) deutlich höhere *V. anguillarum*-Zahlen ermittelt werden, als für die oberen Eiderstationen 1 - I (280 - 3450 Kolonien/cm<sup>3</sup>). Die höchsten Durchschnittswerte wurden an der am weitesten seewärts gelegenen Station 5 (8750 Kolonien/cm<sup>3</sup>), die niedrigsten an der am weitesten stromaufwärts gelegenen Station I bestimmt (280 Kolonien/cm<sup>3</sup>). Im Vergleich zu den übrigen Monaten konnten hohe Zahlen im August '89 (12970 Kolonien/cm<sup>3</sup>) und im Mai '90 (6940 Kolonien/cm<sup>3</sup>) festgestellt werden.

Besonders im Sediment der flüßaufwärts gelegenen Stationen I, II, und III ließ sich *V. anguillarum* häufig nicht nachweisen. An der Station I beispielsweise konnte *V. anguillarum* nur im Mai und Juli '90 aus den Sedimentproben isoliert werden.

In der Elbe wurden die höchsten Zahlen für die am weitesten stromaufwärts gelegene Station 7 (22500

Kolonien/cm<sup>3</sup>) bestimmt. Für diese Station konnten auch die höchsten Mittelwerte (4110 Kolonien/cm<sup>3</sup>) errechnet werden (Abb. 3.29). Eine im Flußverlauf kontinuierliche Zu- oder Abnahme der *V. anguillarum*-Zahlen ließ sich nicht feststellen. Im Mittel wurde flußabwärts zwar eine Abnahme der Zahlen bis auf 530 Kolonien/cm<sup>3</sup> bei Freiburg (Station 3) festgestellt, seewärts war jedoch ein erneuter Anstieg zu verzeichnen. Vor Cuxhaven (Station 1) waren Konzentrationen von durchschnittlich 3200 Kolonien/cm<sup>3</sup> zu beobachten. Die im jahreszeitlichem Verlauf höchsten Zahlen konnten im Januar '90 (5420 Kolonien/cm<sup>3</sup>) und von April - Juni '90 (3500 - 5050 Kolonien/cm<sup>3</sup>) festgestellt werden. Keine Daten liegen im August '89 für die Station 3, im März für die Station 1 und 2, sowie im April '90 für die Station 1 vor.

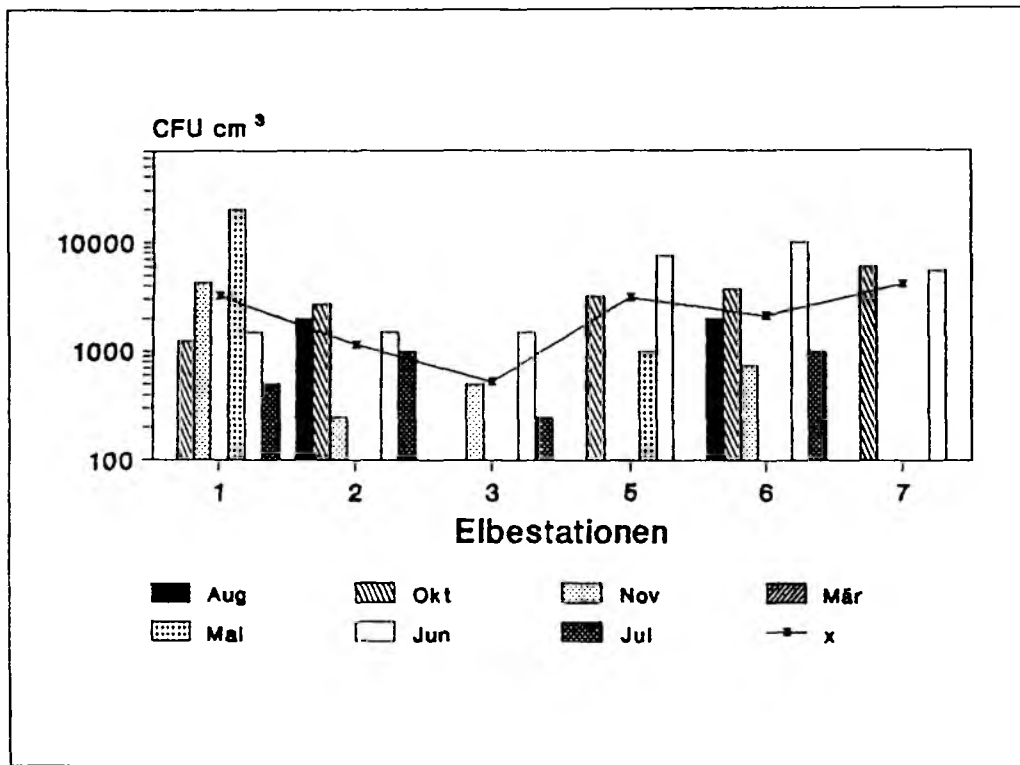


Abb. 3.29 *Vibrio anguillarum* -Zahlen pro cm<sup>3</sup> Sediment der Elbe (7 ausgewählte Monate); x = Stationsmittelwerte

### 3.4.3 Intestinalflora von Flundern und Klieschen

Im folgenden werden die an Darminhalten von 9 Flundern und Klieschen aus der Eider durchgeführten Untersuchungen zur bakteriellen Darmflora vorgestellt. Es wurden nur Tiere verwendet, die äußerlich keine Krankheitserscheinungen aufwiesen. Untersucht werden sollte, inwieweit die mit den Läsionen der bei Flundern auftretenden Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule assoziierten (s. 3.3.1) und auch im Wasser und im Sediment des Untersuchungsgebietes (s. 3.3.2) nachgewiesenen Bakterienarten (*Vibrio anguillarum* und verschiedene motile Aeromonaden) auch in der natürlichen Darmflora der untersuchten Fischarten auftreten. Des weiteren sollte festgestellt werden, inwieweit sich die Zusammensetzung der Darmflora im Flußverlauf verändert.



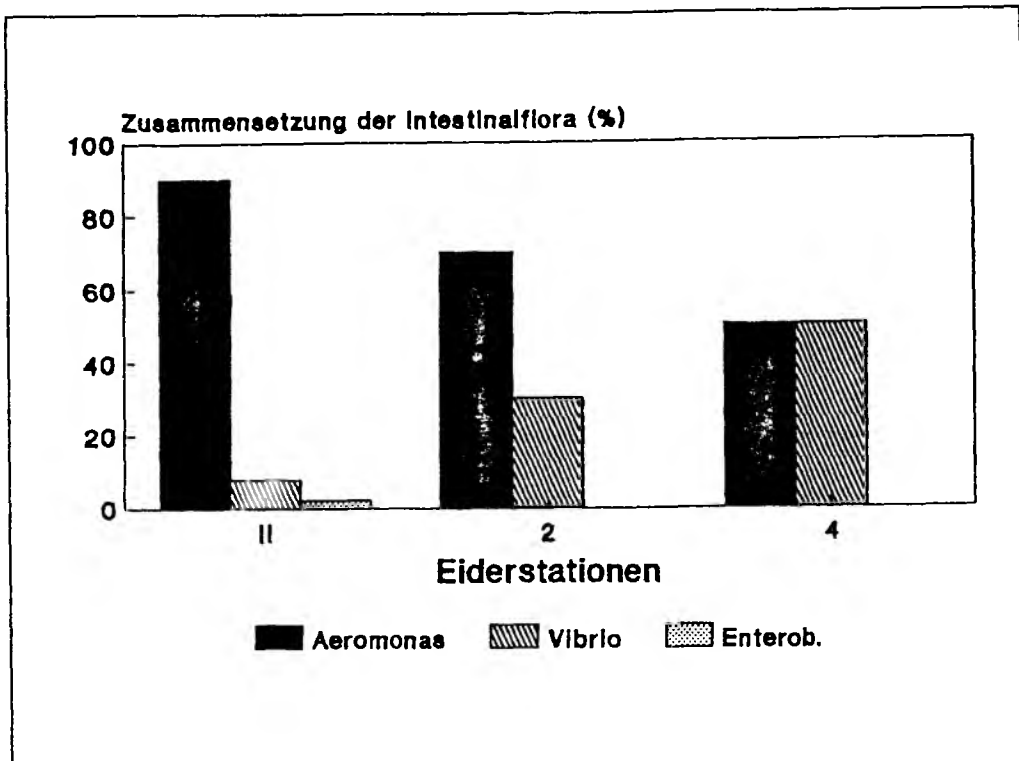
Für die Untersuchungen fanden 9 Tiere zwischen 15 und 19 cm Länge Verwendung. Ihnen wurden 0,05 - 0,37 g Darminhalt entnommen und auf FW (freshwater)- und SW (seawater)- Agar ausgespatelt (s. 2.3.2). Nach einwöchiger Inkubation bei 25 °C wurden Koloniezahlen zwischen  $2 \times 10^4$  und  $1,4 \times 10^6$  CFU/g Darminhalt (FW-Agar) sowie 0 und  $5,1 \times 10^6$  CFU/g Darminhalt (SW-Agar) bestimmt. Stromabwärts konnte ein Rückgang der auf FW - Agar ermittelten Zahlen festgestellt werden. Auf SW - Agar wurden stromabwärts höhere Koloniezahlen ermittelt (Tab. 3.7).

**Tab. 3.7** Angaben zu den Flundern und Klieschen, die für die Untersuchungen der Darminhalte herangezogen wurden, FW = freshwater agar, SW = seawater agar, CFU/g = Colony forming units/Gramm

	Länge (cm)	Darminhalt (g)	CFU/g Darminhalt
Station II			
Flunder	19	0,37	FW 460800 SW 0
Flunder	16	0,12	FW 960000 SW 490000
Flunder	15	0,09	FW 1211100 SW 738000
Station 2			
Kliesche	15	0,08	FW 93750 SW 1439000
Kliesche	17	0,27	FW 77800 SW 827000
Kliesche	15	0,05	FW 1910000 SW 5130000
Station 4			
Flunder	15	0,10	FW 20000 SW 2000000
Flunder	17	0,17	FW 108000 SW 211760
Flunder	15	0,34	FW 117650 SW 267647

Die Zusammensetzung der Darmflora der untersuchten Fische (Abb. 3.30) ergibt sich für die einzelnen Stationen aus jeweils 90 isolierten Stämmen (30 Stämme/Fisch).

Danach setzt sich die Darmflora der vor Friedrichstadt (Station II) gefangenen Flundern zum überwiegenden Anteil (90 %) aus Stämmen zusammen, die zur "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe zu zählen sind. 7,8 % der Isolate waren O/129 sensitiv und sind damit der Gattung *Vibrio* zuzuordnen. Bei 2,2 % der Stämme handelte es sich um gramnegative, Cytochromoxidase-negative Stäbchen, die somit in die Familie der Enterobacteriaceen einzuordnen sind. Eine weitere Differenzierung innerhalb dieser Gruppe wurde nicht durchgeführt. Flußabwärts ist mit zunehmendem Salzgehaltsanstieg eine deutliche Abnahme der *Aeromonas*-Zahlen festzustellen. Für die Station 2 (Eidersperrwerk) wurden noch 63 % Aeromonaden im Darminhalt der untersuchten Fische ermittelt, an der Station 4 waren es noch 50 %. Umgekehrt ist seewärts ein Anstieg der *Vibrio* - Abundanzen zu verzeichnen (30 % an der Station 2, 50 % an der Station 4). Enterobacteriaceen konnten in den Darminhalten der auf den Stationen 2 und 4 gefangenen Flundern und Klieschen nicht nachgewiesen werden.



**Abb. 3.30** Prozentuale Bakterienzusammensetzung der aus jeweils 3 Fischen/Eiderstation gewonnenen Darminhalte

Insgesamt kann festgestellt werden, daß die in den Läsionen und dem Blut geschwürkranker und an Flossenfäule erkrankter Flundern festgestellten Bakterienarten sowohl im Wasser und Sediment, als auch in der Darmflora von Fischen natürlicherweise vertreten sind. Weiterhin ergibt sich hinsichtlich der Zusammensetzung der Fischdarmflora der untersuchten Tiere ein ganz ähnliches Bild wie im Wasser und im Sediment der Untereider. Auch hier wurde seewärts eine Abnahme der *Aeromonas*-Zahlen beobachtet, während die *Vibrio*-Zahlen in der Außeneider höher waren, als im oberen Eiderabschnitt. Offenbar entspricht die Darmflora dieser Fische im wesentlichen der Bakterienflora im umgebenden Milieu und wird von dieser lokal unterschiedlich beeinflusst.

#### 3.4.4 Ergebnisse der Kabeljauuntersuchungen

Die im Rahmen des UBA-Projektes "Fischkrankheiten im Wattenmeer" (Forschungsvorhaben 10204373101) durchgeführten epidemiologischen Untersuchungen ergaben, daß die beim atlantischen Kabeljau neu beschriebene, als "Gelbe Pest" bezeichnete Krankheitsform gehäuft im Bereich des Elbe- und Weserästuars ausschließlich bei juvenilen Tieren (0-Gruppe) zwischen 11 cm und 21 cm und nur während des Winters und Frühjahrs auftrat (Hilger 1990, Hilger et al. 1991, Anders & Möller 1991).

Das Krankheitsbild ist geprägt durch die Ausbildung gelber Knötchen (1-2 mm im Durchmesser), die überwiegend im Maul- und Kiemenbereich auftreten.

Von solchen, dem Maulbereich erkrankter Tiere entnommenen, gelben Knötchen wurden mit Acridinorange angefarbte Quetschpräparate angefertigt. Bei der fluoreszenzmikroskopischen Betrachtung konnten 5 - 20 µm

lange, 0,3 - 0,5  $\mu\text{m}$  dicke Stäbchen in großen Dichten festgestellt werden (Abb. A.3). Diese Morphologie gab bereits einen Hinweis auf die Zugehörigkeit zur *Flexibacter-Cytophaga*- Gruppe.

Um diese Bakterien zu isolieren, wurde daraufhin entsprechendes Material in Cytophaga-Nährlösung gegeben und bis zur  $10^{-6}$ -Stufe verdünnt. In den höheren Verdünnungsstufen ( $10^{-4}$  -  $10^{-6}$ ) wuchsen Reinkulturen dieser "*Flexibacter-Cytophaga*"-ähnlichen Bakterien, während in der Orginalsuspension bis zu einer Verdünnung von  $10^{-2}$  auch Mischkulturen mit *Aeromonas hydrophila* auftraten. Wahrscheinlich handelte es sich bei diesen Bakterien um außen an der Knötchenwand anhaftende Kontaminanten, da bei der mikroskopischen Untersuchung der Knötcheninhalte die sehr viel kleineren *Aeromonas hydrophila*-Zellen (0,5 x 1-2  $\mu\text{m}$ ) nicht gefunden werden konnten.

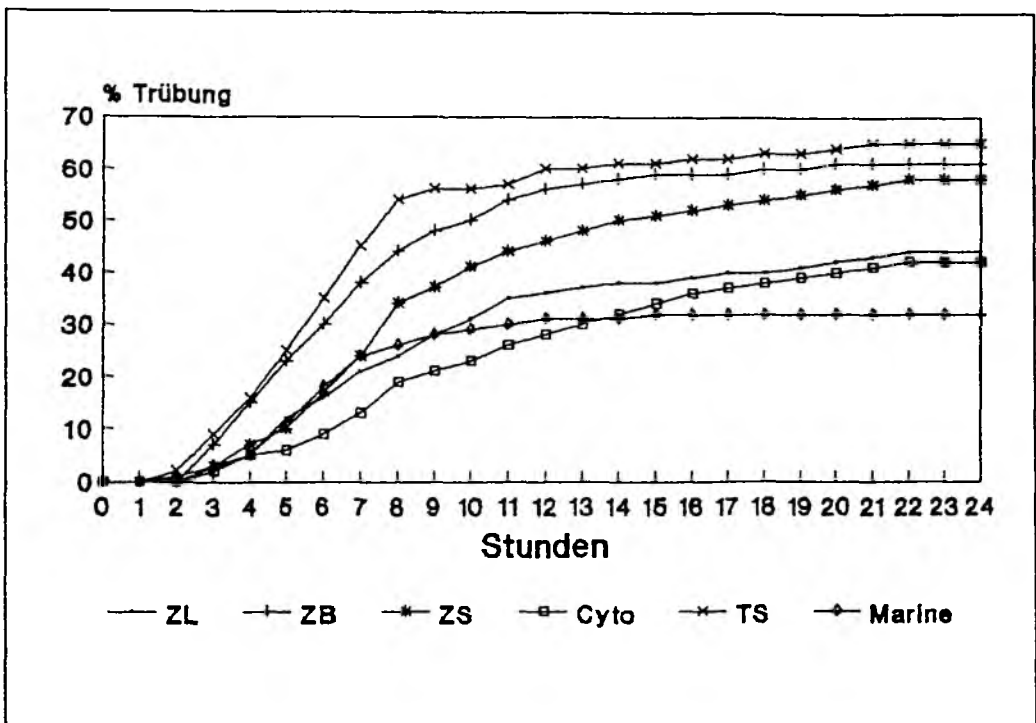


Abb. 3.31 Wachstum des isolierten *Flexibacter-Cytophaga*-ähnlichen Stammes in verschiedenen Nährlösungen: ZL = ZoBell-Leitungswasser-, ZB = ZoBell-Brackwasser-, ZS = ZoBell-Salzwasser-, Cyto = Cytophaga-, TS = Tryptose-Soy-, Marine = Marine- Nährlösung

Das in Cytophaga-Medium kultivierte Isolat wuchs in einem Temperaturbereich von 6 - 31 °C. Ein Temperaturoptimum wurde bei 23 °C festgestellt. Bei allen getesteten Salzgehalten (s. 2.3.3) und auch im Süßwassermedium konnte Wachstum beobachtet werden, das Salzgehaltsoptimum lag bei  $5 \times 10^{-3}$ .

In Abb. 3.31 ist das unterschiedliche Wachstum in verschiedenen nährstoffreichen Medien dargestellt. Der Stamm wuchs sowohl in der nährstoffarmen Cytophaga-Nährlösung als auch in dem nährstoffreichen Marine-Medium. Die stationäre Phase wurde in allen Fällen nach 24 Stunden erreicht. Am besten entwickelte sich der Stamm in TS-Lösung, am schlechtesten in dem nährstoffreichen Marine-Medium.

**Tabelle 3.8**

Charakteristika des isolierten Stammes und verschiedener fischpathogener, zur *Flexibacter-Cytophaga* Gruppe zählender Referenzstämme, LS = lange Stäbchen, G = gelb, (30 µg) = Antibiotikumkanzenration

	Isolierter Stamm	<i>Flexibacter maritimus</i> NCIMB 2513	<i>Flexibacter columnaris</i> ATCC 49513	<i>Flexibacter psychrophilus</i> NCIMB 1947
Form	LS(5-20µm)	LS(2-30µm)	LS(4-8µm)	LS(2-8µm)
Pigmentierung	G	G	G	G
Gleitende Bewegung	+	+	+	+
Gram-Färbung	-	-	-	-
Cytochrom-Oxidase	+	+	+	+
Lysin-Decarboxylase	+	+	+	-
Ornithin-Decarboxylase	+	-	-	-
Katalase	+	+	+	+
Voges Proskauer	+	+	-	-
Indol	-	-	-	-
Nitrat-Reduktion	+	+	+	-
Hydrolyse von				
Aesculin	+	-	-	-
Casein	+	+	+	+
Gelatine	+	+	+	+
Tyrosin	-	+	-	+
Stärke	+	-	-	-
Kongo-Rot-Test	-	+	+	-
Flexirubin-Reaktion	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S-Produktion	-	-	+	-
Säurebildung aus				
Arabinose	-	-	-	-
Glukose	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-
Gasbildung aus				
Glukose	-	-	-	-
Wachstum bei				
5°C	-	-	+	+
35°C	-	±	-	-
42°C	-	-	-	-
Wachstum in TS-Medium (Trypticase-soy-Medium)	+	-	-	-
Sensitiv gegenüber				
Neomycin (30 µg)	+	+	-	+
Cefalotin (30 µg)	+	+	+	+
Chloramphenicol (30 µg)	+	+	+	+
Streptomycin (10 µg)	+	+	+	+
Trimethoprim (125 µg)	-	-	-	-
Gentamycin (10 µg)	+	+	-	+
Kanamycin (30 µg)	-	-	-	+
Ampicillin (10 µg)	+	-	+	+
Tetracyclin (30 µg)	-	-	+	+
Erythromycin (15 µg)	+	+	+	+

Die ermittelten Zell-, kolonimorphologischen und biochemischen Charakteristika des isolierten "Gelbe Pest"-Stammes und der zum Vergleich mitgetesteten Referenzstämme sind in der Tabelle 3.8 dargestellt. Gleitende Bewegung der gramnegativen Stäbchen konnte nach 2 Tagen Inkubation in SIM-Medium festgestellt werden. Auf Cytophaga-Agar bildete der Stamm flache, gelbe - gelblich-orange Kolonien. Nach längerer Kultivierung bildeten sich kurze keulenförmige Zellen aus. Neben der gleitenden Bewegung und der gelben Pigmentierung ist diese Pleomorphie ein deutlicher Hinweis auf die Zugehörigkeit des isolierten Stammes zur *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe (Reichenbach 1984).

Die für die meisten zu den Gattungen *Cytophaga* und *Flexibacter* zählenden terrestrischen und Süßwasserstämme charakteristischen Carotinoid- und Flexirubin-Pigmente konnten für den "Gelbe Pest"-Stamm nicht nachgewiesen werden. Nach Reichenbach & Dworkin (1981) enthalten marine Stämme jedoch nur selten diese Pigmente, die meisten von ihnen überhaupt nur Carotinoide.

### 3.5 Simulationsexperimente

#### 3.5.1 Hydrophysikalische und -chemische Bedingungen

Mit Hilfe der unter 2.4 beschriebenen Hälterungsanlage wurden die Auswirkungen der Änderungen verschiedener Parameter auf den Gesundheitszustand der verwendeten Versuchsfischarten untersucht. Im folgenden sind die während der Experimente ermittelten hydrophysikochemischen Rahmenbedingungen den anderen Untersuchungsergebnissen (Befallsraten, Mortalitäten, Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen) vorangestellt.

##### Temperatur und Salzgehalt

Die vorgenommenen Temperatur- und Salzgehaltseinstellungen wurden unter 2.4 bereits ausführlich erläutert und sollen hier nur kurz für die einzelnen Experimente zusammengefaßt werden.

In den Versuchsserien 1 und 2 waren jeweils 10 Flundern parallel in 3 Becken unterschiedlichen Salzgehaltsbedingungen (Süßwasser, Salzgehaltsfluktuationen zwischen 0,2 und 15 - 17 x 10<sup>-3</sup>, Brackwasser) ausgesetzt worden. Über einen Versuchszeitraum von 12 Wochen wurde dabei jeweils nach drei Wochen die Temperatur -bei 10 °C beginnend- um 3 °C erhöht.

In einer 3. Versuchsserie wurden 10 Flundern bei einem Salzgehalt von 10 x 10<sup>-3</sup> einem alle 3 Tage erfolgenden, kontinuierlichem Temperaturanstieg von 1 °C ausgesetzt. Gleichzeitig wurden zu Vergleichszwecken 10 Flundern unter sonst gleichen Bedingungen aber konstanten 10 °C gehalten.

##### O<sub>2</sub> - Sättigung und BSB<sub>7</sub> - Werte

Aufgrund des hohen Wasserdurchsatzes (50 l/h) und der ständig erfolgten Belüftung der Becken wurden gute Sauerstoffbedingungen für die Versuchstiere geschaffen. Bei stichprobenartig durchgeführten Sauerstoffmessungen konnten Sättigungswerte zwischen 90 % und 97 % (jeweils 4 Messungen/Versuchsserie) festgestellt werden.

In der 1. Versuchsserie wurden niedrige BSB<sub>7</sub> - Werte zwischen 0,32 und 2,43 mg O<sub>2</sub>/l bestimmt. Mit durchschnittlich 0,8 mg O<sub>2</sub>/l (Mittel aus 10 Messungen) lag die im Süßwasserbecken ermittelte Sauerstoffzehrung nur unwesentlich unter denen der anderen Becken (1,0 und 1,1 mg O<sub>2</sub>/l). Eine Zu- oder Abnahme der BSB<sub>7</sub> - Werte mit zunehmender Versuchslänge und ansteigenden Temperaturen konnte nicht festgestellt werden.

In der 2. Versuchsserie, in der Sediment in die Becken eingebracht worden war, konnten im Becken 3 (Brackwasserbecken) mit 1,02 - 4,60 mg O<sub>2</sub>/l die höchsten Sauerstoffzehrungen festgestellt werden, die niedrigsten (0,1 - 4,3 mg O<sub>2</sub>/l) im Becken 2 (Süßwasserbecken). Für den gesamten Versuchszeitraum wurde im Becken 3 ein Durchschnittswert von 2,11, im Becken 1 von 1,74 und im Becken 2 von 1,40 mg O<sub>2</sub>/l bestimmt. Die BSB<sub>7</sub> - Werte gingen mit zunehmender Versuchsdauer und steigender Temperatur zurück. Vermutlich ist diese Abnahme auf die durch ständigen Durchfluß verursachte, zunehmende Ausspülung des schlackigen Anteils im Sediment und somit den Export organischen Materials und der daraus resultierenden geringeren Sauerstoffzehrung zurückzuführen. So war vor Beginn dieser Versuchsserie überwiegend schlackiges Sediment

in die Becken eingebracht worden. Aufgrund der durch den hohen Durchfluß und die verwendeten Sprudelsteine in den Becken hervorgerufene Turbulenz wurde im Wasser am Beginn des Versuches eine starke Trübung erzeugt. Mit zunehmender Versuchsdauer nahm der Schwebstoffanteil dann kontinuierlich ab, am Versuchsende wurden nur noch überwiegend sandige Sedimentanteile in den Becken festgestellt.

Im Vergleich zu den im Feld gefundenen BSB<sub>7</sub> - Werten zwischen 2,5 und 10,4 mg O<sub>2</sub>/l konnte in der 1. Versuchsserie eine signifikant niedrigere Sauerstoffzehrung bestimmt werden. In der 2. Versuchsserie wurden gegenüber der 1. Versuchsserie zwar höhere BSB<sub>7</sub> - Werte ermittelt, diese liegen aber im unteren Bereich der im Untersuchungsgebiet festgestellten Werte.

#### pH - Werte

Während des Versuchszeitraumes wurden im Becken 1 (Salzgehaltsschwankungen) pH - Werte zwischen 7,5 und 8,1, im Becken 2 (Süßwasser) zwischen 7,2 und 7,7 und im Becken 3 (Brackwasser) zwischen 7,9 und 8,2 gemessen (insgesamt 8 Messungen). Diese Werte entsprechen in etwa den im Untersuchungsgebiet ermittelten pH - Bedingungen (7,5 - 8,1).

#### Ammonium, Nitrit, Nitrat

Im Versuchsverlauf wurden für die 1. Versuchsserie NH<sub>4</sub> - Konzentrationen zwischen 12,9 und 130,7 µg NH<sub>4</sub>/l gemessen. Im Durchschnitt (Mittel aus 10 Messungen) ließ sich im Becken 3 eine höhere Konzentration als in den anderen Becken feststellen (79,1 gegenüber 37,6 und 44,4 µg NH<sub>4</sub>/l). Mit 43,9 (Becken 2), 77,2 (Becken 1) und 125,6 µg NH<sub>4</sub>/l (Becken 3) konnten während der 2. Versuchsserie im Mittel in allen Becken etwas höhere NH<sub>4</sub> - Werte bestimmt werden. Eine kontinuierliche Zu - oder Abnahme der Konzentrationen war im Versuchsverlauf und mit steigenden Temperaturen nicht feststellbar. In der Eider waren Durchschnittswerte von 111,5 - 268,0 µg NH<sub>4</sub>/l, in der Elbe zwischen 133,5 - und 818,7 µg NH<sub>4</sub>/l ermittelt worden. Bis auf den in der 2. Versuchsserie im Brackwasserbecken (Becken 3) bestimmten Wert von 125,6 µg NH<sub>4</sub>/l lagen somit alle während des Versuchsablaufs festgestellten NH<sub>4</sub> - Werte im Mittel unterhalb der im Untersuchungsgebiet ermittelten Konzentrationen.

Die höchsten NO<sub>2</sub> - Werte wurden in der 1. Versuchsserie mit 0,92 - 63,94 µg NO<sub>2</sub>/l und durchschnittlich 11,50 µg NO<sub>2</sub>/l im Becken 3 gemessen. Für die anderen Becken konnten ähnlich hohe Durchschnittswerte von 11,04 (Becken 1) und 7,36 µg NO<sub>2</sub>/l (Becken 2) bestimmt werden. Gegenüber der 1. Versuchsserie wurde in der 2. Versuchsserie im Becken 3 eine mehr als doppelt so hohe Konzentration von 24,84 µg NO<sub>2</sub>/l festgestellt. Im Becken 1 lag dieser Wert nur unwesentlich höher als in der 1. Versuchsserie (12,42 µg NO<sub>2</sub>/l), im Becken 2 sogar niedriger (2,76 µg NO<sub>2</sub>/l). Wie bereits für die NH<sub>4</sub> - Werte festgestellt, schwankten die NO<sub>2</sub> - Werte von Messung zu Messung stark. Ein kontinuierlicher Anstieg oder eine Abnahme der Konzentrationen mit zunehmender Versuchsdauer konnte nicht festgestellt werden.

In der Eider und Elbe waren mit 100,4 - 202,2 und 63,11 - 214,8 µg NO<sub>2</sub>/l deutlich höhere NO<sub>2</sub> - Konzentrationen gemessen worden.

Die in der 1. Versuchsserie ermittelten NO<sub>3</sub> - Konzentrationen von 2010 (Becken 1), 2086 (Becken 2) und

1656  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  sind vergleichbar mit den in der Außeneider (Station 3, 4 und 5) und im unteren Elbabschnitt (Station 1 und 2) gemessenen Versuchsserie. Mit bis zu 9418  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  in der Eider (Station 1 bei Tönning) und 8495  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  in der Elbe (Station 5 bei Pagensand) wurden für die flußaufwärts gelegenen Untersuchungsabschnitte jedoch deutlich höhere  $\text{NO}_3$ -Konzentrationen als im Versuch festgestellt.

In der 2. Versuchsserie konnten in den Becken 1 und 3 gegenüber der 1. Versuchsserie niedrigere  $\text{NO}_3$ -Konzentrationen gemessen werden (durchschnittlich 915 und 212  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$ ). Mit 2648  $\mu\text{g NO}_3/\text{l}$  wurde für diese Versuchsserie der höchste Wert im Becken 2 ermittelt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß während der Versuche gute bis sehr gute Sauerstoffbedingungen in den Versuchsbecken herrschten, geringe Sauerstoffzehrung auftrat, den im Untersuchungsgebiet festgestellten pH - Konzentrationen entsprechende pH - Werte gemessen wurden und insgesamt -im Vergleich zu den im Feld ermittelten Versuchsserie- niedrigere  $\text{NH}_4$ -,  $\text{NO}_2$ - und  $\text{NO}_3$ -Konzentrationen auftraten.

### **3.5.2 Auftreten von Hautgeschwüren und Flossenfäule**

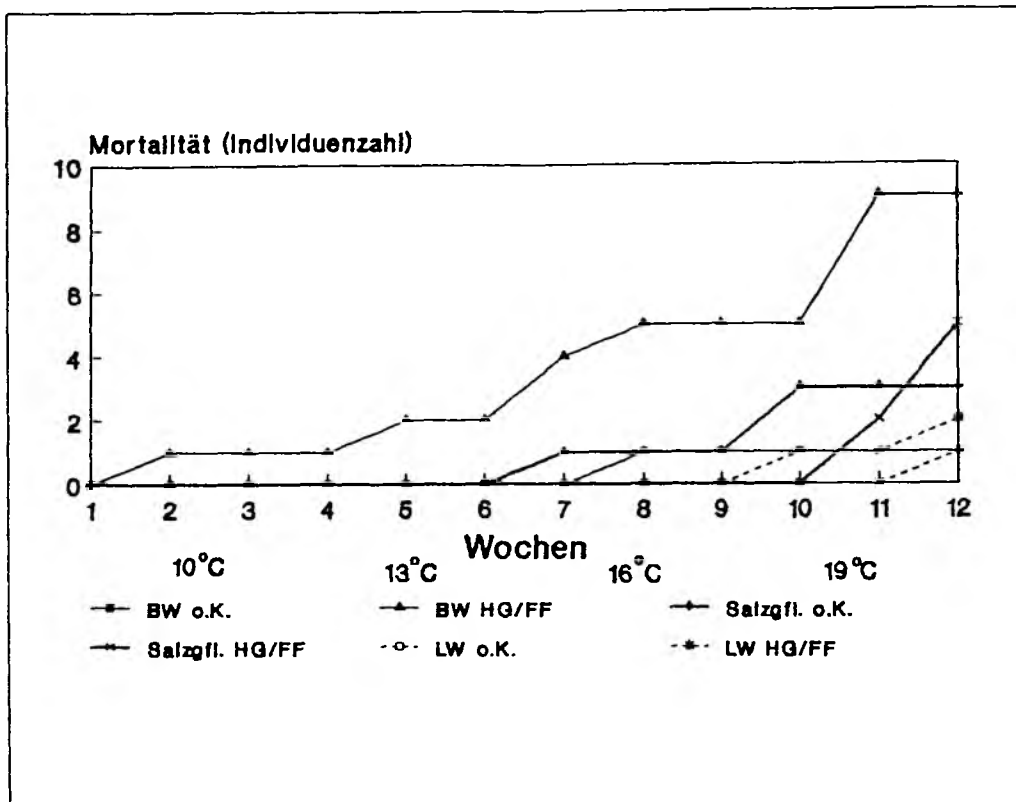
Die Ausbildung von Hautgeschwüren und Flossenfäule wurde in allen 3 Versuchsserien beobachtet. Nachfolgend sind die ermittelten Befallsraten und Mortalitäten vergleichend dargestellt.

#### **Versuchsserie 1**

Das Auftreten von Hautgeschwüren und Flossenfäule konnte im Becken 1 (Salzgehaltsfluktuationen) erstmals in der 11. Woche, im Leitungswasserbecken (Becken 2) erstmals in der 12. Woche bei einer Inkubationstemperatur von 19°C festgestellt werden. Im Becken 1 traten bis zum Versuchsende Hautgeschwüre bei 3, Flossenfäule bei 2 Flundern auf. Im Becken 2 konnte die Hautgeschwürkrankheit nur bei einem, Flossenfäule bei keinem Versuchstier festgestellt werden.

Im Gegensatz dazu trat im Brackwasserbecken (Becken 3) Flossenfäule bei einer Flunder bereits nach 7 Tagen und einer Inkubationstemperatur von 10 °C auf. Im Versuchsverlauf kam es hier bei insgesamt 5 Flundern zur Ausbildung von Hautgeschwüren, bei 4 Flundern wurde Flossenfäule festgestellt.

Alle erkrankten Tiere starben im Laufe des Versuches. Die Zeitspanne vom ersten Auftreten der Krankheitssymptome bis zum Tod der Tiere war dabei unterschiedlich lang. Im Becken 3 wurden 3 - 14 Tage ermittelt. Im Becken 1 konnten die Krankheitssymptome oftmals erst nach dem Tod der Tiere festgestellt werden. Häufig waren bei diesen Fischen nur die Anfangsstadien von Hautgeschwüren und Flossenfäule ausgebildet. Da die Tiere täglich kontrolliert wurden, muß davon ausgegangen werden, daß die Symptome erst kurze Zeit vorher aufgetreten waren.



**Abb. 3.32** Versuchsserie 1: Mortalitäten erkrankter Flundern und von Versuchstieren ohne Krankheitssymptome, angegeben ist die zum jeweiligen Zeitpunkt über den verstrichenen Zeitraum aufsummierte Gesamtmortalität, BW = Brackwasserbecken, Salzgef. = Becken mit Salzgehaltsfluktuationen, LW = Leitungswasserbecken, o.K. = ohne äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen, HG/FF = Hautgeschwüre und/oder Flossenfäule

Im Versuchsverlauf starben auch Versuchstiere, bei denen keine äußerlich sichtbaren Krankheitserscheinungen festgestellt werden konnten. In Abb. 3.32 ist die Mortalität erkrankter Flundern der Mortalität von Flundern ohne Krankheitssymptome gegenübergestellt. Wie dieser Darstellung entnommen werden kann, wurden deutlich höhere Mortalitäten für die geschwürkranken und von Flossenfäule betroffenen Flundern als für die Flundern ohne Krankheitssymptome bestimmt. Nur im Becken 2 konnte umgekehrt eine höhere Mortalität für die letztgenannte Gruppe ermittelt (2 Flundern ohne äußere Krankheitserscheinungen gegenüber 1 geschwürkranken Flunder) werden.

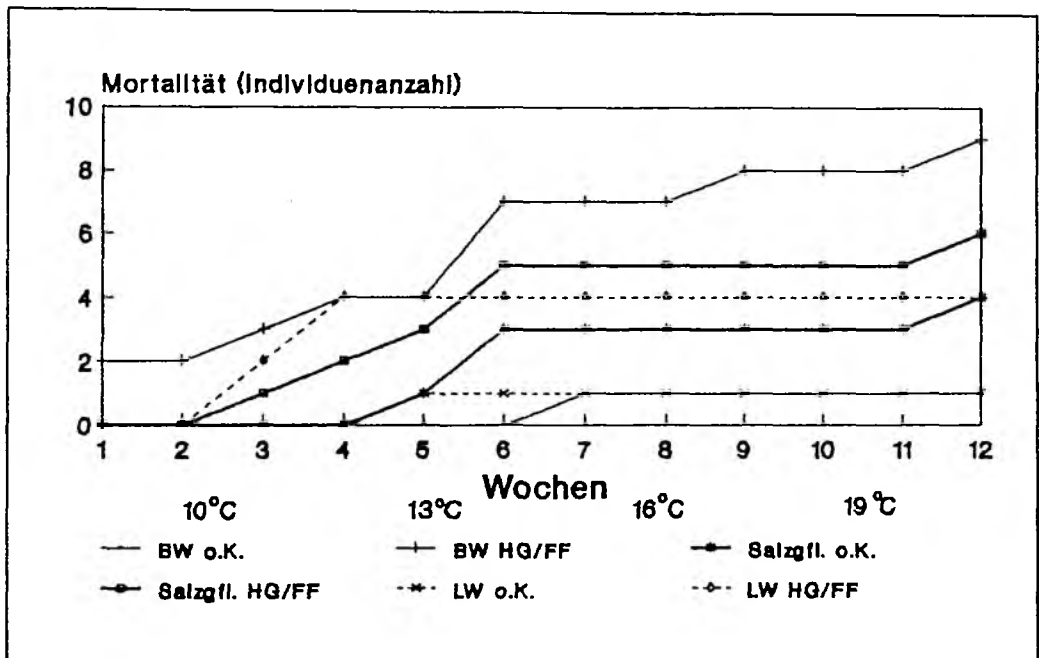
Inwieweit es sich bei den verstorbenen, äußerlich aber unversehrten Flundern um infizierte Tiere handelte, bei denen die typischen Krankheitssymptome prä mortal noch nicht ausgebildet waren, konnte nicht festgestellt werden.

Insgesamt wurde der höchste Befall und die höchste Mortalität erkrankter Flundern im Brackwasserbecken (Becken 3) festgestellt, am niedrigsten waren beide im Süßwasserbecken (Becken 2).



## Versuchsserie 2

In der mit Sediment durchgeführten 2. Versuchsserie zeigte sich gegenüber der 1. Versuchsserie generell ein höherer Befall. Bereits bei einer Inkubationstemperatur von 10 °C wurden in allen 3 Becken Krankheitsfälle beobachtet. So konnte im Brackwasserbecken schon in der 1. Versuchswoche bei 2 Flundern Flossenfäule festgestellt werden, in den anderen Becken in der 2. Woche. Nach der Hälfte des Untersuchungszeitraumes waren bereits 16 erkrankte Flundern verstorben, 7 Tiere im Becken 3, 5 im Becken 1 und 4 im Becken 2. Das sind mehr als 50 % aller Versuchstiere (Abb. 3.33).



**Abb. 3.33** Versuchsserie 2: Mortalität von erkrankten Flundern und von Versuchstieren ohne Krankheitssymptome, angegeben ist die zum jeweiligen Zeitpunkt über den verstrichenen Zeitraum aufsummierte Gesamt mortalität, BW = Brackwasserbecken, Salzgef. = Becken mit Salzgehaltsfluktuationen, LW = Leitungswasserbecken, o.K. = ohne äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen, HG/FF = Hautgeschwüre und/oder Flossenfäule

Bis zum Ende des Versuches trat bei insgesamt 13 Flundern Flossenfäule auf, bei 7 Flundern wurden Hautgeschwüre, bei 1 Flunder Hautgeschwüre und Flossenfäule festgestellt. Insgesamt wurde bei den erkrankten Flundern eine Mortalität von 20 Tieren ermittelt. Demgegenüber lag die Mortalität der Flundern ohne Krankheitssymptome bei 5 Tieren. Für den Zeitraum zwischen Krankheitsausbruch und Tod wurden in diesem Experiment 1 - 27 Tage ermittelt.

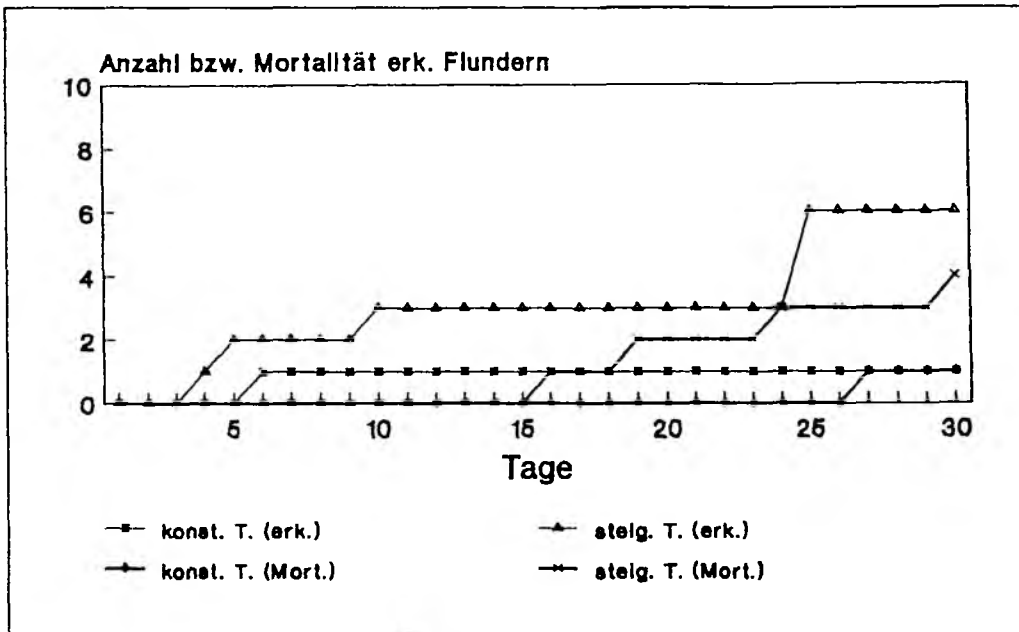
Im Vergleich zwischen der 1. und 2. Versuchsserie kann folgendes zusammenfassend festgestellt werden: während beider Versuche kam es zum Krankheitsausbruch. Der höchste Befall von Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule trat in beiden Serien im Brackwasserbecken (17 %) auf, der niedrigste jeweils im Süßwasserbecken. Mit steigender Temperatur nahm die Anzahl erkrankter Tiere zu.

In der mit Sediment durchgeführten 2. Versuchsserie konnte das Auftreten von Hautgeschwüren und Flossenfäule im Gegensatz zur 1. Versuchsserie in allen Becken bereits bei niedrigen Inkubationstemperaturen

festgestellt werden. Insgesamt wurden für die 2. Versuchsserie die höheren Befallsraten ermittelt. Bis auf eine geschwürkranke Flunder starben alle erkrankten Versuchstiere während des Untersuchungszeitraumes.

### Versuchsserie 3

Eine dritte Versuchsserie wurde durchgeführt, um den Effekt des schnellen Temperaturanstiegs auf den Krankheitsausbruch zu untersuchen. Dazu wurden 10 Flundern bei einem Salzgehalt von  $10 \times 10^{-3}$  und -bei  $10^\circ\text{C}$  beginnend- einem alle 3 Tage erfolgenden Temperaturanstieg von  $1^\circ\text{C}$  über einen Versuchszeitraum von 30 Tagen ausgesetzt. Sediment wurde nicht in die Becken eingebracht. In der Abb. 3.34 sind die beobachteten Krankheitsfälle und Mortalitäten für beide Becken vergleichend angegeben.



**Abb. 3.34** Versuchsserie 3: Anzahl und Mortalität erkrankter Flundern im Vergleich zwischen temperaturkonst. Becken und dem Becken mit kontinuierlich steigenden Temperaturen, angegeben sind die zum jeweiligen Zeitpunkt über den verstrichenen Zeitraum aufsummierten Anzahlen erkrankter Tiere und Gesamtmortalitäten, konst. T. (erk.) = Anzahl erkrankter Tiere im temperaturkonstanten Becken, steig. T. (erk.) = Anzahl erkrankter Tiere im Becken mit steigenden Temperaturen, konst. T. (Mort.) = Mortalität erkrankter Tiere im temperaturkonstanten Becken

Wie aus der Darstellung zu entnehmen ist, erkrankten im Versuchszeitraum 6 Tiere in dem Becken mit steigender Temperatur. 3 wiesen Hautgeschwüre auf, 2 Flossenfäule. Bei 1 Flunder wurden Hautgeschwüre und Flossenfäule festgestellt. 4 der erkrankten Tiere starben 5 - 19 Tage nach Krankheitsauftritt.

In dem Vergleichsbecken erkrankte im gleichen Zeitraum nur 1 Flunder an Flossenfäule, die 21 Tage nach Auftreten der Symptome starb. Mortalität von Flundern ohne Krankheitssymptome wurde in keinem der beiden Becken festgestellt.

Im Vergleich konnten also in dem Becken mit kontinuierlich ansteigender Temperatur deutlich mehr Krankheitsfälle und entsprechend höhere Mortalitäten ermittelt werden als bei  $10^\circ\text{C}$  - temperaturkonstanten Bedingungen im Vergleichsbecken.

### 3.5.3 Bakteriologische Parameter

Im folgenden werden die während der Simulationsexperimente in den Versuchsbecken festgestellten Bakteriendichten (Gesambakterien-, Saprophytenzahlen) angeführt, sowie Angaben zu den aus dem Wasser und aus erkrankten Versuchstieren isolierten potentiell pathogenen Bakterien gemacht.

#### Gesambakterien- und Saprophytenzahlen

Gegenüber den im Feld ermittelten Gesamtbakterienzahlen -im untersuchten Eiderabschnitt wurden Abundanzen zwischen  $1,14$  und  $8,15 \times 10^6$  Bakterien/ml, in der Unterelbe zwischen  $0,96$  und  $14,9$  ermittelt- konnten im Versuchsverlauf der 1. Versuchsserie vermutlich aufgrund der hohen Durchflußraten (50 l/h) und der geringen Vorbelastung des Aquarienwassers, sowie der regelmäßigen Reinigung der Versuchsbecken deutlich niedrigere Gesamtbakteriendichten festgestellt werden. Die niedrigsten Zahlen wurden im Leitungswasserbecken (Becken 2) (18300 - 243700), die höchsten Dichten im Brackwasserbecken (Becken 3) (397000 - 1163500) ermittelt. In den Becken 1 und 3 konnte ein Anstieg der Abundanzen mit steigender Temperatur festgestellt werden. Im Becken 2 schwankten die Zahlen nur geringfügig, ein Anstieg mit der Temperatur konnte hier nicht beobachtet werden. Mit Durchschnittszahlen von 608100 (Becken 1), 272500 (Becken 2) und 714400 (Becken 3) wurden in der 2. Versuchsserie nur unwesentlich höhere Gesamtbakteriendichten ermittelt (Abb. 3.35).

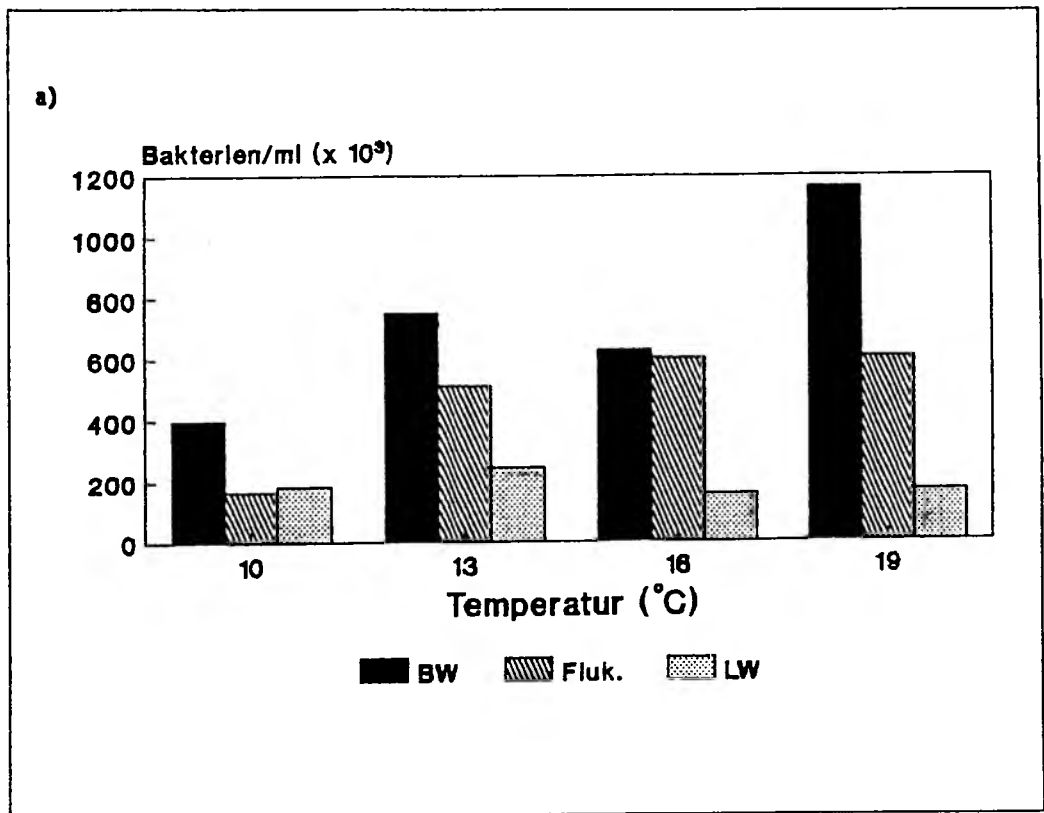
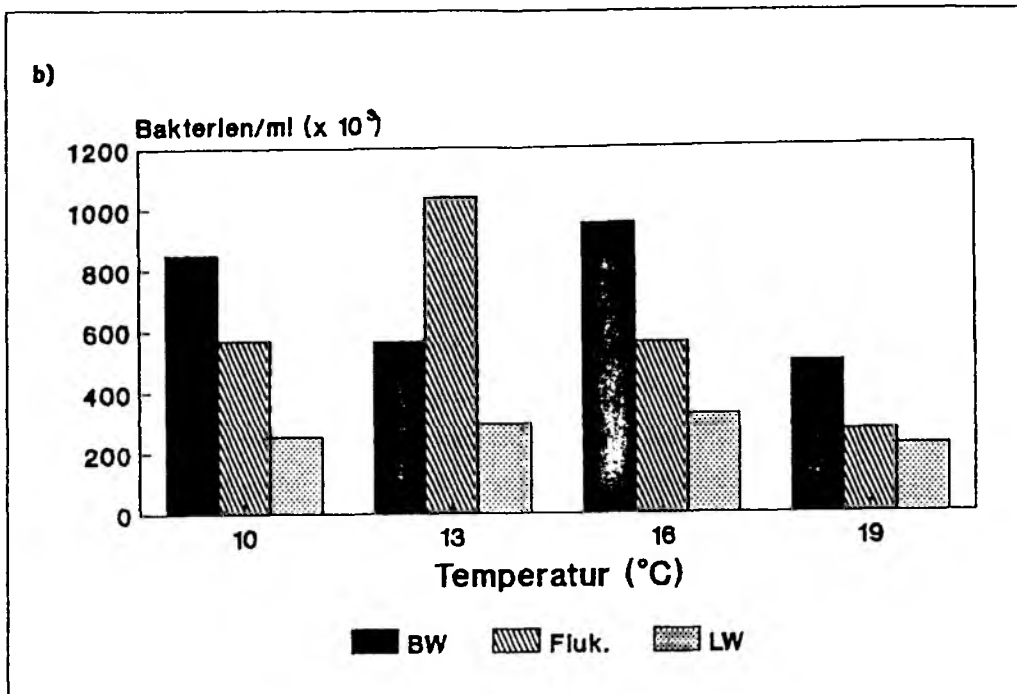
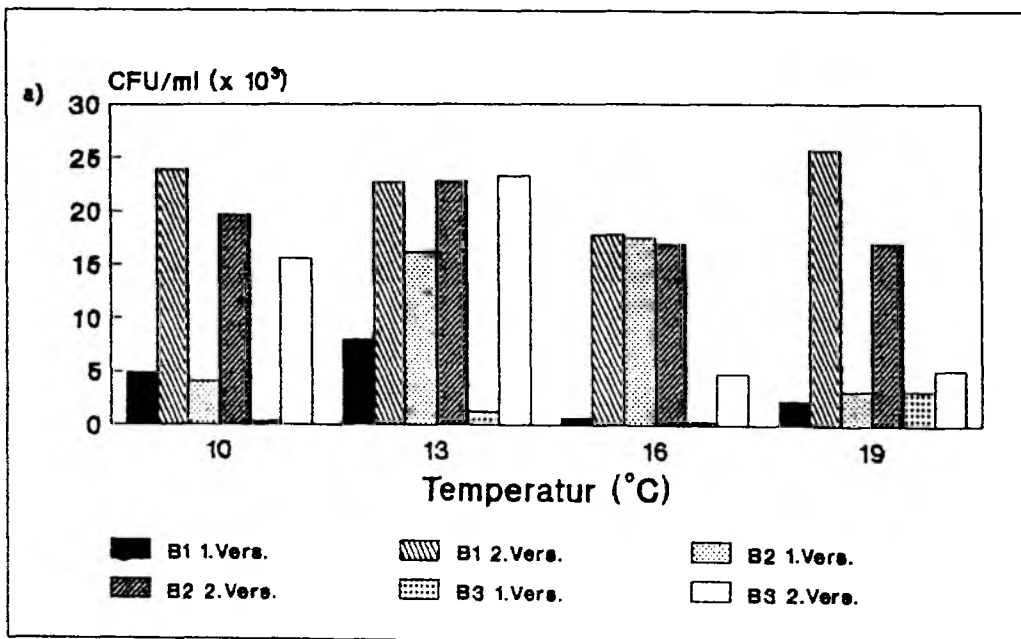


Abb. 3.35 Simulationsexperimente: a) Gesamtbakterienzahlen (GBZ) der 1. Versuchsserie, BW - Brackwasserbecken, Fluk. - Becken mit Salzgehaltsschwankungen, LW - Leitungswasserbecken



**Abb. 3.35** Simulationsexperimente: b) Gesamtbakterienzahlen (GBZ) der 2. Versuchsserie, BW = Brackwasserbecken, Fluk. = Becken mit Salzgehaltsfluktuationen, LW = Leitungswasserbecken

In der 1. Versuchsserie konnten die im Vergleich höchsten, auf ZL - Agar ermittelten Saprophytenzahlen im Leitungswasserbecken (Becken 2) festgestellt werden. Die Abundanzen schwankten zwischen 3300 und 17500 CFU/ml. Diese Saprophytendichten entsprechen ungefähr den niedrigsten im Untersuchungsgebiet in der Außeneider und vor Cuxhaven und Neufeld (Elbestationen 1 und 2) ermittelten Konzentrationen. Die für die Becken 1 und 3 auf ZL - Agar bestimmten Saprophytenzahlen von 700 - 4900 CFU/ml und 300 - 3300 CFU/ml lagen noch unterhalb dieser Zahlen (Abb. 3.36).



**Abb. 3.36** Simulationsversuche: Saprophytenzahlen a) ZL - (ZoBell - Leitungswasser) Agar;

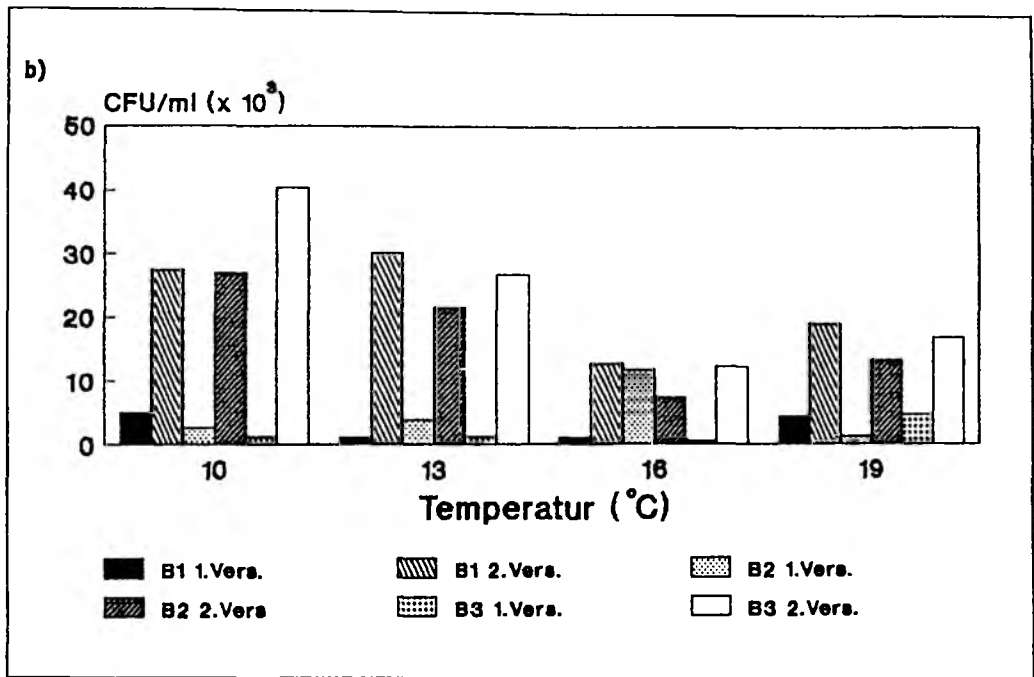


Abb. 3.36 Simulationsversuche: Saprophytenzahlen b) ZB - (ZoBell - Brackwasser) -Agar

Die Saprophytenzahlen schwankten offenbar unabhängig von der Temperatur. In keinem der Becken konnte eine Zunahme der Saprophytenzahlen mit steigender Temperatur beobachtet werden. Ein möglicher Einfluß durch die erfolgte Futterzugabe wird später diskutiert.

Im Gegensatz zur 1. Versuchsserie konnten während der 2. Versuchsserie die höchsten auf ZL - Agar ermittelten Koloniezahlen mit 17800 - 25700 CFU/ml im Becken 1 festgestellt werden. Mit durchschnittlich 22500 (Becken 1), 19100 (Becken 2) und 12200 (Becken 3) CFU/ml wurden gegenüber der 1. Versuchsserie 2 - 10mal höhere Zahlen festgestellt. Sie sind größenordnungsmäßig vergleichbar mit den für die Eiderstationen I - III und die Elbestationen 5 - 6 ermittelten Dichten.

Auf dem ZB - Agar wurden in der 1. Versuchsserie durchschnittliche Koloniezahlen von 2850 (Becken 1), 6467 (Becken 2) und 1950 (Becken 3) CFU/ml bestimmt. Mit 22375 (Becken 1), 17263 (Becken 2) und 24025 (Becken 3) CFU/ml lagen die Zahlen in der 2. Versuchsserie durchschnittlich um das 3 - 12-fache höher. Insgesamt liegen die in der 1. Versuchsserie auf ZB - Agar festgestellten Abundanzen im Vergleich zu den Felddaten im unteren Bereich der dort bestimmten Dichten, während in der 2. Versuchsserie ähnlich hohe Koloniezahlen wie vergleichsweise vor Tönning (Eiderstation 1) bestimmt wurden.

In Proben des in die Versuchsbecken eingebrachten Sediments wurden auf dem ZL - Agar Dichten von  $2,23 \times 10^6$  CFU/cm<sup>3</sup> und  $7,60 \times 10^6$  CFU/cm<sup>3</sup> gefunden. Während der 2. Versuchsserie konnte zu verschiedenen Tageszeiten festgestellt werden, daß die Tiere sich bis auf den Kopfbereich in das Sediment eingruben. Einen Großteil des Tages waren die Tiere also offenbar diesen hohen Saprophytendichten ausgesetzt.

### Potentiell fischpathogene Bakterien

Während der Versuche konnten in der Milz, den Kiemen, den verschiedenen aufgetretenen Läsionen, dem Blut und an der Hautoberfläche untersuchter Versuchstiere die gleichen, bereits im Feld aus erkrankten Fischen isolierten Bakterienarten nachgewiesen werden (Tabelle 3.9).

Wie die Darstellung zeigt, konnte *Aeromonas hydrophila* aus den Abstrichen fast aller erkrankten und untersuchten Fische isoliert werden. Nur in der Milz und dem Blut zweier an Flossenfäule erkrankter Flundern wurde diese Art nicht nachgewiesen. *Aeromonas caviae* konnte in 5, *Aeromonas sobria* in 4 Fällen isoliert werden. *Pseudomonas fluorescens* konnte sechsmal in Läsionen, in keinem Fall aber im Blut nachgewiesen werden. *Vibrio anguillarum* wurde sowohl aus geschwürkranken als auch aus an Flossenfäule erkrankten Tieren, keineswegs aber aus allen erkrankten Tieren isoliert. Die an 2 Flundern, die keinerlei Krankheitssymptome aufwiesen, durchgeführten Untersuchungen zeigten zudem, daß -bis auf *Aeromonas sobria*- alle beschriebenen Arten auch auf der Hautoberfläche gesunder Fische auftreten können.

**Tab. 3.9** Simulationsversuche: aus Organen, Läsionen und dem Blut erkrankter Flundern isolierte Bakterienarten, HG = Hautgeschwür, FF = Flossenfäule, TR = Schwanzfäule; o.K. = ohne Krankheitserscheinungen

Länge (cm)	Symptom	isoliert aus	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<b>1. Versuch</b>							
18	FF	Milz				+	
19	FF	Läsion	+			+	
		Blut				+	+
21	HG	Läsion	+			+	+
18	FF	Läsion	+	+			
20	o.K.	Haut	+	+		+	+
21	o.K.	Haut	+	+		+	+
23	HG/FF	Flosse	+		+		
		Geschwür	+	+	+		
		Kiemen	+		+		
		Blut	+				
18	FF	Läsion	+				
<b>2. Versuch</b>							
18	TR	Läsion	+				
21	TR	Läsion	+				+
20	TR	Läsion	+				
18	HG/FF	Geschwür	+			+	+
16	HG	Läsion	+	+			
21	HG	Läsion	+		+		
<b>3. Versuch</b>							
17	HG/FF/TR	Geschwür	+				
		Blut	+				
29	HG/TR	Geschwür	+				+
		Blut	+				

Während der 1. Versuchsserie wurde aus Wasserproben (jeweils 1 Probe/Woche) der 3 Versuchsbecken und bei allen Inkubationstemperaturen *Aeromonas hydrophila* und fast immer auch *Aeromonas caviae* isoliert. Mit 4660 gegenüber 3668 und 2500 CFU/ml (Becken 2 und 3) konnten die höchsten Abundanzen im Becken 1 ermittelt werden. *Vibrio anguillarum* wurde nur einmal im Becken 1 festgestellt (1400 CFU/ml). In der 2. Versuchsserie ließen sich mit durchschnittlich 3869 (Becken 1), 2988 (Becken 2) und 1140 CFU/ml (Becken 3) sogar niedrigere Zahlen motiler Aeromonaden bestimmen. In allen Becken konnten auch *Vibrio anguillarum* (875 - 1620 CFU/ml) und *Pseudomonas fluorescens* (50 - 1150 CFU/ml) nachgewiesen werden.

Damit wurden während beider Versuchsserien ähnlich hohe "*Aeromonas hydrophila*"- Konzentrationen wie in den untersuchten Eider- und Elbabschnitten (480 - 6760 und 1240 - 7205 CFU/ml) ermittelt, während in der 2. Versuchsserie gegenüber den im Feld festgestellten *Vibrio anguillarum* - Zahlen um das 2 - 10fach höhere Abundanzen ermittelt werden konnten. Insgesamt schwankten die Zahlen im Versuchsverlauf stark. Ein kontinuierlicher Anstieg der Dichten potentiell pathogener Bakterienarten mit der Temperatur konnte nicht beobachtet werden.

Die in den Vorlaufbecken zum Vergleich durchgeführten Untersuchungen ergaben, daß das einströmende Wasser bereits in gewissen Maßen mit diesen Bakterienarten vorbelastet war. Während der Versuchsserien wurden jedoch mit 800 - 1250 (Becken 1), 0 - 50 (Becken 2) und 150 - 225 CFU/ml (Becken 3) nur niedrige "*Aeromonas hydrophila*"- Abundanzen festgestellt. Die ermittelten *Vibrio anguillarum*-Zahlen lagen zwischen 450 (Becken 1) und 700 CFU/ml (Becken 3). *Pseudomonas fluorescens* konnte nicht aus diesen Proben isoliert werden.

Pro cm<sup>3</sup> Sediment, welches in der 2. Versuchsserie in die Becken eingebracht worden war, wurde für *Aeromonas hydrophila* eine Dichte von 565000, für *Aeromonas sobria* von 250000, für *Vibrio anguillarum* von 50700 und für *Pseudomonas fluorescens* von 25000 Zellen/ml festgestellt. Obgleich es sich um Original - Eidersediment handelte, welches im Einzugsbereich des Untersuchungsgebietes genommen worden war, wurden damit deutlich höhere Konzentrationen potentiell fischpathogener Bakterienarten gefunden, als während der Felduntersuchungen.

Hinsichtlich des Eintrages potentiell pathogener Bakterien über das Futter konnte folgendes festgestellt werden:

im Futter waren *Aeromonas hydrophila* und *Pseudomonas fluorescens*, nicht aber *Vibrio anguillarum* nachweisbar. Nach einem Tag Inkubation bei 10 °C in sterilem Brackwasser ließen sich *Aeromonas* - Zahlen von 350 CFU/g Futtermenge ermitteln, nach einem Tag Bebrütung bei 19 °C hingegen *Aeromonas*-Zahlen von 33400 CFU/g Futtermenge. Pro Fütterung wurden ca. 10 g Futter in die Becken gegeben. In Abhängigkeit von der Versuchstemperatur erfolgte bei jeder Fütterung somit ein zusätzlicher Eintrag von 3500 - 334000 Aeromonaden.

### 3.6 Ergebnisse der Infektionsversuche

#### 3.6.1 Infektionsversuche an Flundern

Ziel dieser Versuche war es, die Pathogenität und Virulenz isolierter Stämme zu untersuchen. Dabei sollte festgestellt werden, inwieweit die aus den Läsionen und dem Blut erkrankter Flundern sowie dem Wasser des Untersuchungsgebietes isolierten, bisher als potentiell fischpathogen bezeichneten Bakterienarten, die beschriebenen Krankheiten primär hervorrufen können. Weiterhin sollte untersucht werden, ob mit den im Feld festgestellten Dichten ein möglicher Schwellenwert, der zum Ausbruch der Krankheiten führt, überschritten wird.

##### 1. Versuchsserie

In dieser 1. Versuchsserie wurden ein *Vibrio anguillarum*- und ein *Aeromonas hydrophila*-Stamm, die beide aus einer geschwürkranken Flunder isoliert worden waren, sowie jeweils ein aus Elbwasserproben isolierter *Vibrio anguillarum*- und ein *Aeromonas hydrophila*-Stamm für die Infektion verwendet. Die subkutane Injektion von  $10^8$  Zellen erfolgte in 4 unabhängigen Teilversuchen. Pro Teilversuch wurden 5 Versuchsfundern infiziert, 5 Kontrollfische mit einem entsprechenden Volumen von 0,15 n NaCl-Lösung behandelt. Die Hälterung der Tiere erfolgte bei 15 °C und einem Salzgehalt von  $10 \times 10^{-3}$ .

##### 1. Teilversuch:

In diesem Versuch erfolgte die Injektion von  $10^8$  Zellen des aus einem erkrankten Fisch isolierten *Vibrio anguillarum*-Stammes.

Bereits am 4. Tag nach dieser Behandlung zeigten 3 der Versuchstiere leichte Entzündungserscheinungen im Einstichbereich. Am 5. Tag konnte an einem dieser Tiere ein typisches, offenes Geschwür festgestellt werden. Eine weitere Flunder wies leichte Entzündungserscheinungen im Einstichbereich auf. Am 8. Tag waren bei allen Versuchstieren deutliche Ulzerationsbildungen im Bereich des infizierten Hautgewebes erkennbar.

Die Tiere wurden durch Dekapitieren getötet. Aus Wundabstrichen und Blutproben wurde versucht, den eingesetzten Stamm zu reisolieren. In allen Fällen konnte *Vibrio anguillarum* in den Wundabstrichen nachgewiesen werden, in 2 Fällen auch im Blut.

Die entsprechend mit steriler physiologischer Kochsalzlösung behandelte Kontrollgruppe wies keinerlei äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen auf. Es konnte weder eine Rötung des betroffenen Körpergewebes noch die Ausbildung von Ulzerationen festgestellt werden.

##### 2. Teilversuch:

In diesem Versuch wurde die Injektion entsprechend dem 1. Teilversuch, jedoch mit  $10^8$  Zellen des aus einer Flunder isolierten *Aeromonas hydrophila*-Stammes vorgenommen.

Bereits 3 Tage nach erfolgtem Eingriff konnten bei allen 5 Versuchsfundern deutliche, ödematöse Schwellungen und Depigmentierungen im infizierten Bereich festgestellt werden. Am 4. Tag wurden 4 der 5 Versuchstiere mit entsprechenden Krankheitssymptomen tot aufgefunden, ohne daß es zur Ausbildung von



Ulzera kam. Am 5. Tag verstarb auch der letzte Versuchsfisch. Hier konnte im Bereich der Schwellung das für geschwürkranke Flundern typische Krankheitsbild - die Ausbildung eines offenen Geschwüres- festgestellt werden. Im Untersuchungszeitraum erkrankte keine der Kontrollflundern.

Zum Erregernachweis wurde den 4 Tieren, bei denen es nicht zur Ausbildung offener Geschwüre gekommen war, nach Eröffnung des angeschwollenen Bereiches subkutan Probenmaterial entnommen, des weiteren auch das Blut untersucht. Entsprechend wurden auch der geschwürkranke Flunder Proben entnommen.

*Aeromonas hydrophila* wurde sowohl in den Geschwulsten als auch in dem offenen Ulcus nachgewiesen. In diesen Proben konnte auch *Pseudomonas fluorescens* gefunden werden. Das Auftreten dieser Art in offenen Wunde ist erklärbar, da *Pseudomonas fluorescens* während der Versuche auch häufig im Wasser nachgewiesen werden konnte, hier also durchaus eine Superinfektion vorliegen kann.

*Aeromonas hydrophila* konnte auch in den Blutproben dreier Versuchsfundern festgestellt, *Pseudomonas fluorescens* hingegen nicht im Blut nachgewiesen werden.

### 3. Teilversuch:

In diesem Versuch wurden die Versuchsfundern mit dem aus einer Wasserprobe isolierten *Vibrio anguillarum*-Stamm infiziert.

Am 3. Versuchstag konnte bei einem Versuchsfisch beginnende Flossenfäule, jedoch bei keinem Tier Krankheitssymptome im Einstichbereich beobachtet werden. Am 5. Tag hingegen wurde bei 2 Flundern eine leichte Schwellung in diesem Bereich festgestellt. Im Versuchsverlauf kam es insgesamt bei 3 Tieren zur Ausbildung von Hautgeschwüren und Flossenfäule. Die entsprechenden Symptome wurden am 3., 17. und 20. Versuchstag festgestellt. Nur bei einer dieser erkrankten Flundern zeigte sich jedoch eine Geschwürbildung im Infektionsbereich. Alle Tiere starben im Versuchsverlauf. Bei 2 Flundern traten keine äußerlich sichtbaren Krankheitserscheinungen auf. Flossenfäule konnte auch bei 2 Kontrollfischen festgestellt werden, eines dieser Tiere verstarb im Versuchsverlauf.

Aus den offenen Geschwüren und aus Blutproben der drei erkrankten Versuchstiere konnte *Vibrio anguillarum* isoliert werden. Gleichzeitig wurde auch *Aeromonas hydrophila*, bei einer Flunder auch *Aeromonas caviae* nachgewiesen.

### 4. Teilversuch:

Die Infektion erfolgte mit einem *Aeromonas hydrophila*-"Wasserstamm". Pro Versuchsfisch wurden wiederum  $10^8$  Zellen injiziert.

Am 3. Tag nach der Injektion konnte bei 2 Tieren Geschwulstbildung im Einstichbereich beobachtet werden. Am 16. Tag wurden bei einem dieser Tiere erste Entzündungserscheinungen im Bereich der Schwellung festgestellt.

Bei einer weiteren Flunder kam es zur Ausbildung eines Hautgeschwürs, bei einer anderen wurde Flossenfäule festgestellt. In beiden Fällen konnten jedoch im infizierten Bereich keine Krankheitserscheinungen beobachtet werden. Im Versuchsverlauf starb nur die geschwürkranke Flunder. Bei einem Versuchstier traten keinerlei Krankheitserscheinungen auf.

Da dieser 4. Teilversuch parallel zum 3. Teilversuch durchgeführt wurde, gelten für die Kontrollfische die dort bereits gemachten Angaben.

*Aeromonas hydrophila* konnte aus den Läsionen und den Geschwulsten der 4 erkrankten Tiere und bei 3 Flundern auch aus dem Blut isoliert werden. In den Läsionen eines erkrankten Kontrollfisches konnten *Aeromonas hydrophila* und *Pseudomonas fluorescens*, im Blut *Aeromonas hydrophila* nachgewiesen werden.

## 2. Versuchsserie

In dieser analog zur 1. Versuchsserie durchgeführten 2. Versuchsserie wurden den Versuchstieren jeweils  $10^4$  Zellen der entsprechenden Bakterienstämme injiziert. Die im folgenden beschriebenen Teilversuche wurden unter sonst gleichen Bedingungen durchgeführt.

### 1. Teilversuch:

Die Versuchstiere wurden mit  $10^4$  Zellen des aus einer geschwürkranken Flunder isolierten *Vibrio anguillarum* - Stammes infiziert.

Am 8. Versuchstag konnte bei 2 Flundern beginnende Flossenfäule festgestellt werden. Bei einem dieser Tiere kam es gleichzeitig zu einer Anschwellung des infizierten Gewebebereiches. Am 9. Tag nach erfolgtem Eingriff wurde diese Flunder tot aufgefunden. Im Versuchsverlauf kam es bei dem anderen erkrankten Fisch zusätzlich zur Geschwürbildung und zum Tod nach Ablauf von 19 Versuchstagen. An den verbliebenen Tieren konnten keine äußerlich sichtbaren Krankheitssymptome festgestellt werden.

Während des Versuches kam es auch bei einem der Kontrollfische zur Ausbildung mehrerer Geschwüre. Dieses Tier starb am 21. Tag des Versuches.

Aus dem Wundabstrich der im Einstichbereich erkrankten Flunder konnte *Aeromonas hydrophila*, aus dem Blut *Vibrio anguillarum* und *A. hydrophila* isoliert werden.

### 2. Teilversuch:

In diesem Teilversuch wurden die Fische mit  $10^4$  Zellen des aus einer erkrankten Flunder isolierten *Aeromonas hydrophila*-Stammes infiziert.

Bereits am 2. Tag konnte bei einer Versuchsflunder eine leichte Entzündung im Einstichbereich festgestellt werden. Am 4. Tag wurde diese Flunder tot aufgefunden. Inzwischen hatte sich im entzündeten Bereich ein Ulkus ausgebildet, zusätzlich konnte auch Flossenfäule festgestellt werden. Am 8. Tag trat bei einem weiteren Tier Flossenfäule auf, in Folge konnte auch die Ausbildung eines Geschwürs beobachtet werden. Am 19. Tag wurde diese Flunder tot aufgefunden, ohne daß es im Bereich des infizierten Gewebes zur Ausbildung von Krankheitssymptomen gekommen war.

Bei 2 untersuchten Fischen konnte *Aeromonas hydrophila* in den Geschwüren, dem erkrankten Flossengewebe und im Blut nachgewiesen werden. Aus dem Blut einer Flunder wurde auch *V. anguillarum* isoliert.

Da die Teilversuche 1 und 2 zeitgleich durchgeführt wurden, gelten hinsichtlich der Kontrollfische die im 1. Teilversuch gemachten Angaben auch für diesen Teilversuch.

### 3. Teilversuch:

Es wurden  $10^4$  Zellen des aus dem Wasser isolierten *Vibrio anguillarum*-Stammes injiziert.

Am 12. Tag nach der Behandlung konnte bei 3 Versuchstieren, nach 17 Tagen bei allen 5 Fischen Flossenfäule beobachtet werden. Symptome im Einstichbereich ließen sich jedoch bei keinem der Tiere feststellen. Am 18. Tag wurden 3 erkrankte Fische mit Flossenfäule und Hämorrhagien tot aufgefunden, am 20. Tag die übrigen mit Flossenfäule und Petichien auf der Unterseite.

Im gleichen Zeitraum erkrankten auch 3 Kontrollfische. Ein Tier wies Hautgeschwüre, ein Tier Flossenfäule auf. Bei dem dritten Fisch wurden Hautgeschwüre und Flossenfäule festgestellt. Alle erkrankten Kontrollflundern starben im Versuchsverlauf. Auch hier konnten bei keinem der Tiere Krankheitserscheinungen im Injektionsbereich festgestellt werden. Bei den verbliebenen 2 Kontrollfischen traten bis zum Versuchsende keine äußerlich sichtbaren Krankheitssymptome auf.

Aus den Läsionen und dem Blut zweier untersuchter Tiere wurden *Vibrio anguillarum* und *Aeromonas hydrophila* isoliert, bei einer Flunder konnte *Aeromonas hydrophila* in den Abstrichen, *Vibrio anguillarum* im Blut nachgewiesen werden. Bei 2 Tieren wurden keine bakteriologischen Untersuchungen mehr durchgeführt, da die Tiere offenbar bereits länger als 12 h tot waren.

### 4. Teilversuch:

Zeitgleich zum 3. Teilversuch wurden 5 weitere Versuchstiere mit  $10^4$  Zellen des aus dem Wasser isolierten *Aeromonas hydrophila*-Stammes infiziert.

Als erste Krankheitssymptome traten bei einer Flunder am 12. Versuchstag Anzeichen von Flossenfäule auf. Nach 15 Tagen waren bereits 3 Tiere an Flossenfäule erkrankt, bei keinem der Tiere konnte jedoch eine Entzündung, Ödem- oder Geschwürbildung im Injektionsbereich festgestellt werden. In den folgenden Tagen bildeten sich bei 2 dieser Tiere auch Ulzerationen aus, bei einem Tier wurden Petichien auf der Unterseite festgestellt.

Am 17. Versuchstag wurden 2, am 18. Versuchstag die dritte der erkrankten Flundern tot aufgefunden. Bis zum Versuchsende erkrankte ein weiteres Versuchstier an Flossenfäule, bei dem 5. Versuchstier konnte keine Krankheitssymptomatik festgestellt werden. Die Angaben zur Kontrollgruppe können dem 3. Teilversuch entnommen werden.

Aus allen, erkrankten Fischen entnommenen Proben, wurde *Aeromonas hydrophila* isoliert.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß es bei Injektion der hohen Dosen ( $10^8$  Zellen/Fisch) aller verwendeter Stämme zur Ausbildung einer Krankheitssymptomatik des infizierten Gewebes von Versuchsfischen kam. Am virulentesten erwies sich dabei der aus einer erkrankten Elbflunder isolierte *Aeromonas hydrophila*-Stamm. Hier zeigten sich bereits am 3. Tag bei allen Versuchstieren ödematöse Schwellungen. Am 5. Tag waren alle Tiere verstorben, ohne daß es bei 4 von 5 Fischen überhaupt zur Geschwürbildung kam. Ähnliches konnte für den entsprechenden *Vibrio anguillarum*-Stamm festgestellt werden. Nach 8 Tagen waren bei allen Versuchstieren Ulzera im Injektionsbereich zu beobachten.

In den mit entsprechenden "Wasserstämmen" durchgeführten Versuchen zeigte hingegen nur ein Teil der

Versuchstiere (1 bzw. 2 Tiere) Krankheitssymptome in diesem Bereich. Bei beiden Stämmen wurden vergleichsweise längere Inkubationszeiten bis zur Ausbildung offener Ulzera festgestellt.

Aus allen Fischen mit Krankheitserscheinungen im infizierten Bereich konnten dabei die injizierten Bakterienarten aus den erkrankten Geweben, in den meisten Fällen auch aus Blutproben reisoliert werden.

In der mit den niedrigeren Konzentrationen ( $10^4$  Zellen/Fisch) durchgeführten 2. Versuchsserie zeigten sich ähnliche Virulenzunterschiede zwischen den Stämmen, allerdings in abgeschwächter Form. In den Teilversuchen, in denen die Tiere mit den "Fischstämmen" infiziert wurden, erkrankte jeweils nur 1 Versuchstier im Bereich der Injektionsstelle. Dabei konnte bei der Behandlung mit *Aeromonas hydrophila* bereits nach wenigen Tagen Geschwürbildung und anschließender Tod festgestellt werden, während es nach der Injektion des *Vibrio anguillarum*-Stammes nur zu einer Schwellung des entsprechenden Bereiches kam, ohne daß Geschwüre ausgebildet wurden. Der Tod trat hier erst nach 19 Tagen ein.

Im Falle der als Agens eingesetzten "Wasserstämme" erkrankte zwar der überwiegende Teil der Versuchstiere (5 bzw. 4 Tiere) an Hautgeschwüren und Flossenfäule, bei keinem konnten jedoch Krankheitserscheinungen im Infektionsbereich festgestellt werden. Die beobachteten Krankheitsausbrüche sind in diesem Falle zudem mit Vorsicht zu bewerten, da im gleichen Zeitraum auch Kontrollfische entsprechend erkrankten.

Eine abschließende Bewertung dieser Ergebnisse erfolgt im Abschnitt 4.2.2 .

### 3.6.3 Infektionsversuche an Kabeljaus

Im folgenden sind die Ergebnisse der an juvenilen Kabeljaus durchgeführten Infektionstests angeführt. Die Versuche 1 und 2 erfolgten in Zusammenarbeit mit Hilger (Hilger 1990). Die bakteriologischen Untersuchungen wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführt.

#### 1. Versuch

3 Versuchstiere wurden 3 Stunden lang einer Bakteriensuspension mit einer Dichte von  $3,2 \times 10^5$  Zellen/ml ausgesetzt und anschließend in einem Aquarium mit Brackwasserdurchfluß (Salzgehalt  $16 \times 10^{-3}$ ) bei einer Inkubationstemperatur von 9 - 14 °C gehältert. Die Tiere wurden täglich auf die Ausbildung von Krankheitssymptomen hin untersucht. Zum Vergleich wurde eine Kontrollgruppe von 3 unbehandelten Tieren unter gleichen Bedingungen gehalten.

Während des Untersuchungszeitraumes von 30 Tagen konnten bei keinem der Versuchstiere die für die beschriebene Krankheit typische Symptomatik, noch andere Krankheitserscheinungen festgestellt werden.

#### 2. Versuch

3 Versuchstieren wurde der Maul- und Gaumenbereich mit einer entsprechenden Bakteriensuspension aber einer Konzentration von  $3 \times 10^6$  Zellen/ml eingepinselt und die Tiere anschließend wie im 1. Versuch beschrieben gehältert. Als Kontrollgruppe wurde wiederum die gleiche Anzahl unbehandelter Tiere eingesetzt. Trotz der hohen, verwendeten Bakterienkonzentration, kam es im Versuchszeitraum von 30 Tagen bei keinem der Tiere zur Ausbildung des typischen Krankheitsbildes.

### 3. Versuch

Im Dezember 1990 wurde in der Elbe (Neufelder Watt) in einem Fang von 60 juvenilen Kabeljaus (10 - 24 cm) bei 2 Tieren die Symptome der "Gelben Pest" festgestellt. Eines dieser erkrankten Tiere wurde in diesem Versuch mit 19 gesunden Tieren über einen Zeitraum von 3 Monaten gehältert (Salzgehalt von  $16 \times 10^{-3}$ , Inkubationstemperatur 10 °C).

Einerseits sollte festgestellt werden, ob und wieviele der gesunden Tiere im Untersuchungszeitraum infiziert wurden. Auf der anderen Seite konnte in diesem Versuch erstmals auch der Krankheitsablauf verfolgt werden.

Im Untersuchungszeitraum kam es bei keinem der gesunden Tiere zur Ausbildung der krankheitstypischen Symptome. Nach einer Versuchsdauer von 3 Monaten lebten noch alle Tiere, einschließlich des erkrankten Kabeljaus. Trotz der schwerwiegenden Läsion im Maulbereich des erkrankten Kabeljaus, konnte dieses Tier auch bis zum Ende des Versuches die angebotene Nahrung aufnehmen. Allerdings zeigte sich im Vergleich zu den gesunden Tieren ein deutlich schlechteres Wachstum.

Mit zunehmender Versuchsdauer konnte eine Veränderung des Krankheitsbildes festgestellt werden. Beim Fang des Tieres war eine typisch gelb pigmentierte Läsion mit deutlichen Entzündungserscheinungen des angrenzenden Hautgewebes im linken vorderen Kieferbereich festgestellt worden. Lokal war das befallene Gewebe bis auf den Unterkieferknochen erodiert. Sukzessiv konnte dann Nekrose des befallenen Gewebes und ein fortschreitender Substanzverlust beobachtet werden. Am Ende des Versuches waren sowohl das Unterkieferhautgewebe als auch das -knochengewebe linksseitig stark reduziert, der gesamte Unterkiefer nach links verschoben (Abb. A 5). Das verbliebene Gewebe war leicht aufgequollen, zeigte jedoch nicht mehr die typisch gelbe Pigmentierung wie am Anfang.

## 4 Diskussion

### 4.1 Methodik

#### Probennahme

Teilweise konnten aufgrund gesperrter Zufahrtswege in die Eider und schlechter Wetterbedingungen nicht in jedem Monat alle Stationen beprobt werden. Aus organisatorischen Gründen war es in der Regel nicht möglich, die Beprobung an aufeinanderfolgenden Tagen durchzuführen. Die oftmals geänderten Witterungsbedingungen wirken sich jedoch direkt auf die untersuchten hydrographischen und bakteriologischen Parameter aus. So kommt es beispielsweise durch starke Niederschläge zu vermehrtem Eintrag organischen Materials in die Gewässer. Dadurch können die Bakterienzahlen kurzfristig ansteigen.

Nicht immer konnten die Proben zum gleichen Tidenzeitpunkt genommen werden, obgleich versucht wurde, die Beprobung mit auflaufendem oder ablaufendem Tidenstrom durchzuführen. Gerade durch den Tideneinfluß werden bakteriologische Parameter jedoch stark beeinflusst. Da ein großer Anteil der Bakterien an Partikel gebunden ist, kommt es kurz nach dem Stillwasser bereits zu einer starken Sedimentation von Bakterien. So konnte zu diesem Zeitpunkt ein deutlicher Gradient bezüglich der Saprophytenzahlen vom Grund bis zur Oberfläche festgestellt werden, während bei starkem Tidenstrom eine mehr oder weniger homogene Verteilung auftrat (Rheinheimer 1965b). Da die Stationen zudem nicht im Hauptstrom, sondern überwiegend im Bereich von sogenannten Nebenelben und -flüssen lagen, können die lokal aufgetretenen hohen Saprophytenzahlen zudem durch den Landeintrag mitbeeinflusst worden sein.

Außerdem wirken sich Windrichtungen und -stärken auf die Fänge aus. Aus Zeitgründen konnten die Stationen nicht mehrfach befischt werden, um statistisch besser abgesicherte Daten zu erhalten. Die Interpretation der ermittelten Befallsraten wird aufgrund des Wanderverhaltens der Fische, insbesondere das der Flundern erschwert. Flundern bevorzugen während der Sommermonate Regionen mit niedrigen Salzgehalten. In großen Flüssen treten sie bis zu über 100 km stromaufwärts auf, solange ihnen der Weg in Brackwasser- und marine Bereiche nicht versperrt wird (Muus 1967). Im Winterhalbjahr wandern die Flundern zum Abbläuen aus den Flüssen in marine Bereiche ab, suchen aber offenbar immer wieder die ursprünglichen Futtergründe auf (Vethaak in press). Während der Sommermonate sind Flundern relativ standorttreu. Aus diesem Grunde beschränkte beispielsweise Vethaak (in press) seine zur Bedeutung von Umweltstressfaktoren durchgeführten Untersuchungen auf das Sommerhalbjahr, um migrationsbedingte Verfälschungen bei der regionalen Bestandsaufnahme der Befallsraten ausschließen zu können. Schnackebach (1926) berichtete, daß sich die Elbflundern während des Winters im Unterlauf der Elbe sammeln. In den eigenen Untersuchungen wurden deutliche Unterschiede im Auftreten der Flundern > 10 cm festgestellt. Die höchsten Abundanzen konnten im Oktober, November und im März ermittelt werden.

### Bakteriologische Parameter

Aufgrund des umfangreichen Probenmaterials konnte die Differenzierung potentiell fischpathogener Bakterien nur anhand einer begrenzten Zahl biochemischer Charakteristika nach Angaben aus der Fachliteratur durchgeführt werden. Einige typische Stämme wurden deshalb zur Verifizierung der Ergebnisse auch mit dem API 20E - System unter Verwendung geeigneter Auswertetabellen getestet (s. 2.3.1). Dennoch erfolgte dabei die Zuordnung beispielsweise auf dem Artniveau in der Regel nur anhand eines Merkmales. Nach Angaben aus "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (1984) wurden innerhalb der Gattung *Vibrio* Stämme, die gegenüber 10 µg und 150 µg des Vibriostaticums O/129 sensitiv waren, der Art *Vibrio anguillarum* zugeordnet. Grisez et al. (1990) fanden jedoch auch bei zu anderen *Vibrio*-Arten zählenden Stämmen eine Sensitivität gegenüber beiden Konzentrationen. Andererseits konnten auch O/129 resistente *Vibrio*-Stämme nachgewiesen werden (Muroga et al. 1979).

Um Fehlinterpretationen biochemischer Testergebnisse zu vermeiden, wurde versucht, die Bestimmung mit Hilfe serologischer Nachweismethoden (Agglutinationstest, immunfluoreszenzmikroskopischer Nachweis) durchzuführen. Ein für *Aeromonas hydrophila* hergestellter polyklonaler Antikörper erwies sich jedoch als zu unspezifisch für einen Erregernachweis. In Versuchen zeigten sich vielfach Kreuzreaktionen mit anderen Bakterienarten, weshalb diese Bestimmungsmethode während der Untersuchungen keine Anwendung fand.

Die zur Ätiologie der beschriebenen Krankheiten durchgeführten Untersuchungen waren auf bakteriologische Methoden begrenzt. Eine mögliche Beteiligung von Viren und Pilzen wurde nicht untersucht. Diesbezüglich können aber Literaturangaben angeführt werden. So konnte Wiklund (1991) in 40 geschwürkranken Flundern keine Viren nachweisen. In einer dänischen Studie (Miljø - Projecter 1981) wurden bei Dorschen mit "Ulkus Syndrom" Rhabdoviren in den Läsionen festgestellt. Die Krankheit konnte in Infektionsversuchen jedoch nur mit Hilfe von Bakterien ausgelöst werden. In allen Phasen der Pathogenese wurde eine Beteiligung von Bakterien nachgewiesen. Die durchgeführten mycologischen Untersuchungen ergaben negative Befunde.

### Simulationsexperimente und Infektionstests

Mit Hilfe der beschriebenen Hälterungsexperimente konnten die natürlichen Feldbedingungen nur bedingt simuliert werden. So ließ sich während der Versuche aufgrund der untersuchten hydrochemischen und bakteriologischen Parameter zwar eine bessere Wasserqualität als unter Feldbedingungen feststellen, die Tiere waren jedoch räumlich stark eingeschränkt und wurden unnatürlich hohen Individuendichten ausgesetzt. Muus (1967) ermittelte in dänischen Küstengewässern maximale Dichten von 6 Flundern/m<sup>2</sup>. In den hier durchgeführten Versuchen wurden hingegen 10 Tiere auf 0,3 m<sup>2</sup> gehalten. Neben dem nicht auszuschließenden "sozialen Streß" bestand dadurch erhöhte Verletzungs- und Infektionsgefahr. So konnte häufig ein gegenseitiges Verletzen beim Zuschnappen nach Nahrungsstücken beobachtet werden.

Futter stellte während der Versuche keinen limitierenden Faktor dar. Das angebotene *Crangon*-Fleisch dient Flundern auch unter natürlichen Bedingungen als Nahrung (Muus 1967, Fiedler 1990). Obgleich berichtet wird, daß Flundern häufig selektiv nur eine Futtersorte aufnehmen (Muus 1967), könnte durch das einseitige Futterangebot jedoch ein zusätzlicher, negativer Effekt eingetreten sein. Generell konnte eine gute

Futteraufnahme durch die Tiere beobachtet werden. Besonders zur Fütterung der gehälterten Kabeljaus erwies sich das *Crangon*-Fleisch als geeignete Nahrung. Die juvenilen Tiere zeigten gegenüber den Flundern ein noch besseres Freßverhalten und wuchsen gut ab.

Aufgrund der begrenzten Hälterungsmöglichkeiten konnten die Simulationsexperimente nur mit kleinen Stichprobenumfängen durchgeführt werden. Parallelen wurden nicht angesetzt. In allen drei ganz ähnlich konzipierten Versuchsserien ließen sich jedoch die gleichen Temperatur- und Salzgehaltseffekte feststellen.

Ähnliches gilt für die Virulenzversuche. Hier war die geringe Anzahl der Versuchstiere durch die Genehmigung erteilende Behörde vorgegeben. Eine Interpretation der Ergebnisse war dennoch möglich, da zu jedem Infektionsversuch eine Kontrollgruppe eingesetzt wurde.

Die subkutane Injektion wurde gewählt, um den unter natürlichen Bedingungen wahrscheinlichsten Infektionsweg zu simulieren. So konnten dänische Wissenschaftler vor Ausbruch der Geschwürkrankheit bei Dorschen ein Festsetzen von Bakterien in der Epidermis mit anschließender Kolonisation und Penetration feststellen (Miljø - Projecter 1981). Um die Infektion mit definierten Bakteriendichten durchführen zu können, wurde dabei die subkutane Injektion dem Einpinseln einer künstlichen Wunde vorgezogen.

## 4.2 Zur Ätiologie der untersuchten Fischkrankheiten

### 4.2.1 Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule

Während der Untersuchungen konnten aus Läsionen und dem Blut geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Fische neben *Vibrio anguillarum* verschiedene zur "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe zählende Bakterienarten (*A. hydrophila*, *A. caviae* und *A. sobria*) isoliert werden. In den Wundabstrichen wurde im Feld einigemale, während der Simulationsexperimente des öfteren auch *Pseudomonas fluorescens* nachgewiesen. *Aeromonas hydrophila* ließ sich aus 41 der 43 erkrankten Flundern, die während der Feld- und Simulationsexperimente untersucht wurden, isolieren. Oft wurde auch *Aeromonas caviae* nachgewiesen. *Aeromonas sobria* hingegen konnte nur zweimal gefunden werden. Alle Arten traten dabei sowohl bei geschwürkranken als auch bei Tieren mit Flossenfäule auf.

*Vibrio anguillarum* ließ sich zwar überwiegend in geschwürkranken, jedoch keineswegs in allen derart erkrankten und untersuchten Flundern nachweisen, konnte aber auch aus 3 an Flossenfäule erkrankten Flundern isoliert werden. Am seltensten trat *Pseudomonas fluorescens* auf. Diese Art wurde überwiegend aus Läsionen und von der Hautoberfläche, seltener aus dem Blut isoliert.

Diese Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen der bereits 1988 an entsprechend erkrankten Elbflundern durchgeführten, bakteriologischen Untersuchungen überein (Ullrich 1989). Offenbar gibt es für beide Krankheiten keinen spezifischen bakteriellen Erreger.

In den von Vethaak (in press.) 1988 im Bereich des holländischen Wattenmeeres durchgeführten Untersuchungen, konnten im Blut geschwürkranker Flundern ebenfalls Bakterien der Gattungen *Vibrio*, *Aeromonas* und *Pseudomonas* nachgewiesen werden. Das von ihm angegebene Spektrum von Bakterienarten



muß dabei jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da die Differenzierungen nur mit Hilfe des API 20E-Systems unter Verwendung der von der Herstellerfirma für die Humanmedizin bestimmten Auswertetabelle erfolgten (vergleiche 2.3.1). So werden von ihm neben *Pseudomonas fluorescens* auch *P. vesicularis*, *P. cepacia*, *P. putrefaciens* und *P. diminuta* angegeben. *Vibrio anguillarum* wurde nicht isoliert, diese Art ist allerdings in der erwähnten Auswertetabelle auch gar nicht aufgeführt. Stattdessen führt Vethaak die Arten *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, und *V. cholerae* an. Nach Grisez et al. (1990), die die Eignung dieses miniaturisierten Testsystems für die Identifizierung verschiedener fischpathogener *Vibrio* - Stämme untersuchten, muß zudem zum Nachweis von *Vibrio* zusätzlich ein Cytochromoxidase-Test durchgeführt, sowie die Vibriostaticum O/129-Sensitivität überprüft werden.

Aus der Gruppe der motilen Aeromonaden wurden *Aeromonas hydrophila* und *A. sobria* isoliert.

Auch bei diesen Untersuchungen konnten keine krankheitsspezifischen, bakteriellen Erreger für die Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule nachgewiesen werden. Vethaak folgert, daß die bakteriellen Infektionen sekundärer Natur sind und als Superinfektionen opportunistischer Bakterien gewertet werden müssen. Klärende Infektionsversuche mit den aus Fischen isolierten Bakterienstämmen wurden jedoch von ihm nicht durchgeführt.

Des weiteren konnte Vethaak für das gleichzeitige Auftreten von Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule eine hohe Signifikanz feststellen. Da er im Zusammenhang mit beiden Krankheiten ein ganz ähnliches Spektrum von Bakterienarten nachweisen konnte, geht er von einem gleichen oder zumindest sehr ähnlichen Syndrom aus, zumal oftmals eine klare Trennung zwischen beiden Krankheitsbildern nicht möglich ist.

Während der eigenen Untersuchungen konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. So war besonders im Bereich der Flossenbasen oftmals keine deutliche Trennung zwischen beiden Krankheitsbildern möglich. Sehr häufig wurde bei geschwürkranken Flundern in Folge auch Flossenfäule und umgekehrt festgestellt. Bei beiden Krankheiten konnten die gleichen Bakterienarten nachgewiesen werden.

McGarey et al. (1990) untersuchten die Ätiologie des "Ulcer Disease Syndrome" (UDS) bei verschiedenen Süß- und Salzwasserfischarten im unteren Abschnitt des St. Jones River, Florida. Sie konnten aus Läsionen, im Blut und auf der Haut untersuchter Tiere überwiegend *Aeromonas*- und *Vibrio*-Arten, aber auch *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. putrefaciens* und *Plesiomonas shigelloides* isolieren. *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *Vibrio anguillarum* und *V. cholerae* non-01 konnten dabei signifikant häufiger in UDS-erkrankten Fischen als in gesunden nachgewiesen werden.

Da von vielen dieser Bakterienarten die Fähigkeit zur Bildung von Ulzerationen bekannt ist, ließ sich auch in diesen Untersuchungen kein spezifischer Primärerreger feststellen. Die gefundene, unterschiedliche Zusammensetzung der Bakterienflora in Läsionen und im Blut der Tiere weist ebenfalls daraufhin, daß es sich um opportunistische Bakterien handelt, die Sekundärinfektionen hervorrufen.

Wiklund hingegen konnte bei seinen zwischen 1987 und 1989 an der finnischen Küste durchgeführten Untersuchungen aus den Läsionen von 87 der 162 untersuchten geschwürkranken Flundern einen untypischen, Cytochromoxidase-negativen *Aeromonas salmonicida*-Stamm isolieren, der in einigen Fällen auch in den

visceralen Organen untersuchter Fische nachweisbar war (Wiklund 1991; Wiklund & Bylund 1991). Mit Hilfe von Infektionstests konnte er die Pathogenität dieses Bakterienstammes aufzeigen. Bisher waren *Aeromonas salmonicida*-Infektionen bei Plattfischen nicht bekannt.

Mit Hilfe der nach genauen Angaben zur Methodik (Probenentnahme aus dem nekrotischen Randbereich der Ulzera, Anzucht auf Blut- und BHI-Agar, lange Inkubationsdauer, Isolation kleiner, transparenter und nicht pigmentierter Kolonien, die hämolytische Aktivität zeigen, Wiklund pers. Mitteilung) an Elblundern ergänzend durchgeführten eigenen Untersuchungen (November und Dezember '91, Februar '92) konnten jedoch nur eindeutig Cytochromoxidase-positive, der Gruppe der motilen Aeromonaden zuzuordnende Stämme isoliert werden.

#### **4.2.2 Pathogenität und Virulenz der mit der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule assoziierten Bakterienarten**

Die Begriffe Pathogenität und Virulenz werden in der Literatur vielfach nicht deutlich voneinander abgegrenzt oder sogar synonym verwendet. Aus diesem Grunde soll diesem Abschnitt die Definition beider Begriffe vorangestellt werden.

Der Begriff Pathogenität bezeichnet die Fähigkeit eines Erregers in bestimmten Organismen Krankheiten verursachen zu können. Er charakterisiert also eine Qualität. Der Begriff ist dabei wirtsspezifisch zu verstehen, Pathogenität per se gibt es nicht, da jeder Erreger ein spezifisches Pathogenitätsspektrum besitzt. Die Pathogenität von Bakterien ist auf Toxine zurückzuführen, die in Exo- und Endotoxine unterteilt werden. Exotoxine sind Sekretionsprodukte lebender Bakterien, meist thermolabile Proteine, die in der Regel gewebsspezifische Toxizität besitzen. Solche Gifte sind z.B. Enterotoxine, die bei bakteriellen Lebensmittelvergiftungen wirksam werden. Zu den Enterotoxinbildnern ist auch *Vibrio cholerae* zu zählen. Daneben werden von invasiven Mikroorganismen häufig jedoch auch Leukozidine und Hämolsine als Exotoxine gebildet.

Endotoxine hingegen sind in der Zellwand gramnegativer Bakterien vorkommende, thermostabile Lipopolysaccharid-Komplexe. Sie werden erst nach Tod und Lyse der Bakterienzellen frei und entwickeln dann ihre toxische Wirkung auf den Wirtsorganismus.

Der Begriff Virulenz bezeichnet den Grad der krankmachenden Wirksamkeit einer pathogenen Art bzw. eines pathogenen Stammes. Er charakterisiert also eine Quantität. Die Virulenz ist naturgemäß nur in vivo meßbar. Sie kann z.B. als Letaldosis, die benötigt wird, um 50 % der Versuchstiere zu töten ( $LD_{50}$ ), angegeben werden. Die infektiöse Dosis, mit der ein Krankheitsausbruch hervorgerufen wird, ist also abhängig von der Virulenz des jeweiligen Agens (Müller-Ruchholz 1974).

Im folgenden wird anhand der vorliegenden Ergebnisse und anhand von Literaturangaben die Pathogenität und Virulenz der beschriebenen Bakterienarten sowie ihre Bedeutung als primäre Erreger bakterieller Fischkrankheiten diskutiert.

### Vibrio anguillarum

*Vibrio anguillarum* gilt neben *Aeromonas salmonicida*, dem Erreger der Furunkulose, als weltweit bedeutendster, bakterieller Erreger von Fischkrankheiten. Die durch dieses Bakterium hervorgerufene Krankheit wird generell als "Vibriosis" bezeichnet. Es existieren jedoch eine Reihe von Synonyma wie "Rote Pest" (Bergmann 1909), Salzwasserfurunkulose (Rucker 1963), "Beulen-" (Kubota & Takakuwa 1963) und "Geschwürkrankheit" (Bagge & Bagge 1956), die das gleiche Krankheitsbild beschreiben.

Das nach der damaligen Nomenklatur als *Bacterium anguillarum* bezeichnete Bakterium konnte erstmals von Canestrini (1893) aus an der "peste rosa delle anguille" erkrankten Aalen isoliert werden, nachdem das Krankheitsbild 1761 bereits detailliert von Bonaveri beschrieben wurde (Hofer 1904, Droin de Boville 1907).

In Nordamerika wurde Vibriose erstmals 1953 beobachtet (Crosa et al. 1977). Vermutlich über den Import französischer Aale gelangte der Erreger 1975 nach Japan (Muroga et al. 1976).

Durch den Ausbruch dieser Krankheit werden in der Aquakultur sowohl in Fischfarmen (Hoshina 1956, 1957; Smith 1961; Ross et al. 1968, Evelyn 1971) als auch bei kultivierten Evertebraten hohe Verluste hervorgerufen. So konnte *V. anguillarum* beispielsweise aus geschwürkranken larvalen und juvenilen Muscheln isoliert werden (Tubiash et al. 1970). Ladeiras et al. (1986) wiesen diesen Erreger in Austern, Bowser et al. (1981) in Krebsen nach.

Vibriosis tritt überwiegend in marinen und Brackwasserbereichen auf, da *Vibrio anguillarum* auf eine Mindestkonzentration von  $\text{Na}^+$  angewiesen ist. Lee et al. (1978) und West et al. (1980) ermittelten gutes Wachstum bei einem Angebot von 60 - 100 mM  $\text{Na}^+$ . Toranzo et al. (1982) konnten nach 10 Tagen Bebrütung eines virulenten *V. anguillarum*-Stammes auf einem Süßwassermedium keine lebensfähigen Zellen mehr feststellen. Nach Angaben von Austin & Austin (1987) kann Wachstum bei 0,5 % - 3 %, nicht aber bei 0 % und 7 % beobachtet werden.

Trotzdem wurden Ausbrüche von Vibriose auch bei Süßwasserfischen beobachtet (Rucker 1959, Ross et al. 1968, Hacking & Budd 1971, Muroga 1975). Einige Autoren führen dies auf die Fütterung mit Seefischabfällen zurück.

*V. anguillarum* wurde bisher nicht als humanpathogen beschrieben, während andere im Brackwasser und unter marinen Bedingungen auftretende *Vibrio* - Species wie *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* und *V. vulnificus*, deren Pathogenität für Meeresorganismen vielfach beschrieben wurde (Muroga et al. 1984; Colorni et al. 1981; Muroga et al. 1976; Nishibuchi & Muroga 1977; Nishibuchi et al. 1979, 1980), sowie *V. cholerae* auch beim Menschen Infektionskrankheiten hervorrufen können. *V. cholerae*, der Erreger der Cholera, tritt zwar überwiegend im Süßwasser auf, vor allem der nicht virulente Serotyp (*V. cholerae* non 0:1) konnte jedoch auch im Brackwasser wie z.B. in Ästuargebieten nachgewiesen werden (Bisgaard et al. 1978, Bashford et al. 1979, Colwell et al. 1980, West et al. 1980). Besonders durch den Verzehr roher Evertebraten und verdorbener Fischprodukte können beim Menschen durch die genannten Arten Infektionen auftreten. Beschrieben wurden Gastroenteritis, Wundinfektionen und Sepsis, Weichteilinfektionen und Ulzerationsbildungen (Ellington 1982, Armstrong 1983, Bachmann et al. 1983, Nolan et al. 1984, Kaysner et al. 1987).

Bei der Untersuchung der pathogenen Mechanismen stellte sich die Frage, ob es sich um Endo- oder Exotoxine handelt, die durch *V. anguillarum* produziert werden und den Krankheitsausbruch hervorrufen. Umbreit & Ordal (1972) stellten fest, daß die Injektion steril filtrierten Überstandes einer *V. anguillarum*-Suspension zu hohen Mortalitäten bei infizierten Versuchsfischen führte, was sie mit dem Vorhandensein extrazellulärer Produkte erklärten, jedoch so nur indirekt bewiesen. Abe (1972) hingegen infizierte Lachse mit Endotoxinen und stellte die Ausbildung von Hämorrhagien im Infektionsbereich fest. Wolke (1975) und Roberts (1976) postulierten, daß hämolytische Toxine die bei erkrankten Fischen zu beobachtenden Anämien hervorrufen müßten. Munn (1980) konnte das Vorhandensein eines solchen Hämolsins nachweisen und beschrieb dieses als thermolabiles Enzym mit einem Molekulargewicht von 191000 Daltons und einem pH-Optimum von 7,2 - 7,4. In Versuchen konnte er hämolytische Aktivität von Reinkulturen nach 19 h Inkubation bei 20 °C feststellen. Als weitere Toxine werden heute auch Proteasen angeführt (Inamura et al. 1984; Kodoma et al. 1984).

Als Folge hämolytischer und proteolytischer Aktivität konnten beispielsweise Ransom et al. (1984) bereits kurze Zeit nach erfolgter Infektion mit einem virulenten *V. anguillarum*-Stamm ausgeprägte histopathologische Änderungen im Blut, Bindegewebe, in der Milz, den Kiemen und später auch im Intestinaltrakt bei Keta-Lachsen (*Onchorhynchus keta*) feststellen. In der akuten Phase ist die klinische Pathologie neben den beschriebenen äußeren Krankheitssymptomen gekennzeichnet durch die Verflüssigung von Milz und Niere sowie die intraperitoneale Ausbildung von Petichien (Schlotfeldt 1985).

28 von 30 *Vibrio anguillarum*-Stämmen, die während der Untersuchungen aus Flundern isoliert wurden, zeigten  $\beta$ -Hämolys auf Blutagar, von 10 entsprechenden Wasserstämmen jedoch nur 7. Bei 3 Stämmen wurde hingegen unvollständige ( $\alpha$ -) Hämolys festgestellt. Bei den meisten Stämmen konnte also Hämolsin als möglicher Pathogenitätsfaktor nachgewiesen werden.

Im Anschluß an diese Feststellung stellt sich jedoch die Frage nach der Virulenz der getesteten Stämme.

Nach Crosa (Crosa et al. 1977; 1980; Crosa 1980) besitzen hochvirulente *V. anguillarum* - Stämme ein als pJm1 bezeichnetes Virulenzplasmid mit einem Molekulargewicht von  $47 \times 10^6$  Daltons, das in weniger virulenten Stämmen nicht gefunden werden konnte. Dieses Plasmid codiert für einen Eisen-bindenden Mechanismus, welcher es den Bakterien ermöglicht, um das verfügbare Eisen im Fischgewebe zu konkurrieren. Im Fisch stellt Eisen einen limitierenden Faktor für das Wachstum von *V. anguillarum* dar. Da im aeroben Milieu bei pH - Werten um 7,0 Eisen fast ausschließlich als undissoziiertes Eisen-III-hydroxid vorliegt, sind Bakterien auf solche Eisen - bindenden Mechanismen angewiesen, um dieses Element aufnehmen zu können. Das System besteht im einzelnen aus einer niedermolekularen Siderophore und 2 Membranproteinen. Die in das umgebende Milieu der Bakterienzelle abgegebene Siderophore bindet mit hoher Spezifität und Affinität  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen. Nach Aufnahme in die Zelle wird dieser Komplex durch enzymatische Hydrolyse gespalten, das Eisen als  $\text{Fe}^{2+}$  verfügbar.

Erst durch diesen Mechanismus ist die schnelle Multiplikation von -in diesem Falle- *V. anguillarum* im Wirtsorganismus möglich. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß die Freihaltung des Milieus von Eisen anscheinend zu den Abwehrmechanismen höherer Organismen zählt. Eisenbindende Proteine fixieren

das Eisen derart, daß es für Mikroorganismen nicht verfügbar ist (Schlegel 1985).

In den durchgeführten Infektionsversuchen kam es nach Injektion von  $10^8$  Zellen des aus einer erkrankten Flunder isolierten *V. anguillarum*-Stammes bereits nach kurzen Inkubationszeiten bei allen Versuchsfischen zur Ausbildung von Geschwüren. Die Behandlung mit der gleichen Konzentration eines entsprechenden Wasserstammes führte jedoch nur bei 2 Flundern zu Schwellungen im Infektionsbereich, nur bei einem dieser Tiere bildete sich ein Geschwür aus.

Bei einer Injektion von  $10^4$  Zellen/Fisch der gleichen Stämme, kam es hingegen bei nur einer Flunder zur Ulkusbildung im Infektionsbereich im Falle des aus einer erkrankten Flunder isolierten Stammes. Die mit dem "Wasserstamm" infizierten Fische wiesen keinerlei Krankheitssymptomatik im Einstichbereich auf. Bei beiden Konzentrationen erwies sich der aus einer Flunder isolierte *V. anguillarum*-Stamm gegenüber dem entsprechenden "Wasserstamm" als virulenter.

Die maximal im Feld beobachtete Zelldichte von  $10^4$  Zellen/ml führte im Falle des "Wasserstammes" bei keinem Versuchstier zur Ausbildung von Ulzerationen. Zum Krankheitsausbruch kommt es offenbar erst nach einer deutlichen Vermehrung der Bakterien im Fisch. Die infektiöse Dosis liegt offenbar oberhalb der im Feld festgestellten Bakterienkonzentrationen, ein Schwellenwert wird nicht überschritten. Der Krankheitsausbruch kann allein aufgrund der im Wasser und Sediment des Untersuchungsgebietes festgestellten *V. anguillarum*-Dichten nicht erklärt werden.

#### "*Aeromonas hydrophila*"- Gruppe

In der zur Familie der Vibrionaceen zählenden Gattung *Aeromonas* treten 2 deutlich voneinander zu trennende Gruppen auf. In der 1. Gruppe sind die psychrophilen, nicht motilen Aeromonaden als Spezies *Aeromonas salmonicida* zusammengefaßt. Die 2. Gruppe der mesophilen, motilen Aeromonaden -auch als "*Aeromonas hydrophila*" - Gruppe bezeichnet- umfaßt 3 Arten: *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* und *A. sobria* (Sakazaki & Balows 1981; Popoff 1984). Dabei wird *A. hydrophila* noch in 2 Subspecies, ssp. *hydrophila* und ssp. *anaerogenes* unterteilt. In der Literatur sind aber auch noch immer die Synonyma *A. liquefaciens*, *A. formians* und *A. punctata* angeführt.

Beide Gruppen sind für die Fischpathologie von Bedeutung. Während *A. salmonicida*, der Erreger der Furunkulose, relativ wirtsspezifisch bei Salmoniden auftritt, konnte *A. hydrophila* im Zusammenhang mit Schwanz- und Flossenfäule sowie hämorrhagischen Septikämien bei verschiedenen Fischarten nachgewiesen werden (Austin & Austin 1987).

Zudem wurde diese Art auch aus Amphibien, die an der sogenannten "Red leg" - Krankheit erkrankt waren, isoliert (z.B. Kulp & Borden 1942). Motile Aeromonaden konnten auch als Verursacher verschiedener Krankheiten bei Reptilien verantwortlich gemacht werden (z.B. Marcus 1971).

Unter den 3 genannten zur "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe zählenden Arten sind nur von *Aeromonas hydrophila* einige humanpathogene Stämme bekannt, die beim Menschen überwiegend Diarrhöen hervorrufen können (Pulverer & Schaal 1978).

Als Pathogenitätsfaktoren konnten Allan & Stevenson (1981) hämolytische und proteolytische Aktivität nach erfolgter Infektion bei Forellen feststellen. Dabei wurde bezüglich dieser extrazellulären Produkte ein signifikanter Unterschied in der Toxizität bei verschiedenen *A. hydrophila*-Stämmen festgestellt. Kanai & Wakabayashi (1984) konnten in ihren Untersuchungen eine thermolabile Protease mit einem Molekulargewicht von 57500 und einer optimalen Aktivität zwischen pH 7,5 und 8,5 nachweisen. Bloch & Manteil (1989) geben aufgrund ihrer an *A. hydrophila*-Stämmen durchgeführten Untersuchungen  $\beta$ -Hämolysin als Hauptpathogenitätsfaktor an.

Vergleichende Untersuchungen zur Virulenz verschiedener *A. hydrophila* ssp. *hydrophila*-, *A. hydrophila* ssp. *anaerogenes*- und *A. sobria*- Stämme ergaben eine gegenüber den anderen Stämmen signifikant höhere Virulenz aller getesteten *A. hydrophila* ssp. *hydrophila*-Stämme (Wakabayashi et al. 1981). Auch Lallier et al. (1981) fanden Virulenzunterschiede zwischen *A. hydrophila* und *A. sobria* bei Regenbogenforellen. *A. sobria* zeigte dabei gegenüber *A. hydrophila* eine durchweg deutlich geringere Virulenz und z.T. gänzlich fehlende Pathogenität. Toranzo et al. (1989) stellten hingegen bei adulten Tieren der Gattung *Dorosoma cepedianum* eine LD<sub>50</sub> von  $2 \times 10^5$  Zellen fest. In diesen Untersuchungen konnte auch die Zytotoxizität von *A. sobria*-Stämmen an poikilo- und homoiothermen Zelllinien nachgewiesen werden.

In eigenen Versuchen ließ sich bei 24 von 30 aus erkrankten Fischen isolierten und getesteten *A. hydrophila*-Stämmen  $\beta$ -hämolytische Aktivität, bei 5 Stämmen unvollständige Hämolyse feststellen. Ein Stamm zeigte keine Hämolyse. Bei 7 von 10 Wasserstämmen konnte  $\beta$ -Hämolyse, bei 3 Stämmen  $\alpha$ -Hämolyse festgestellt werden.

In den Infektionsversuchen ergaben sich ähnliche Ergebnisse wie für die *Vibrio anguillarum*-Stämme. Der aus einer Flunder isolierte *Aeromonas hydrophila*-Stamm erwies sich gegenüber einem Wasserstamm der gleichen Art auch hier als virulenter. So starben nach Injektion von  $10^8$  Zellen des erstgenannten Stammes alle Versuchstiere innerhalb von 5 Tagen, nachdem vorher Geschwürbildung beobachtet wurde. Im anderen Fall konnten nur bei einem Tier entsprechende Symptome im Einstichbereich festgestellt werden. In den mit  $10^4$  Zellen durchgeführten Versuchen kam es nur bei der Behandlung mit dem erstgenannten Stamm bei einer Flunder zu einer Entzündung und Tod nach nur viertägiger Inkubationszeit, bei Verwendung des Wasserstammes zeigte sich keine Krankheitssymptomatik bei den Versuchstieren im Bereich des infizierten Gewebes.

Die Ergebnisse können entsprechend denen für die *V. anguillarum*-Stämme interpretiert werden. Allein die im Feld beobachteten "*Aeromonas hydrophila*"-Konzentrationen führen nicht zwangsläufig zum Ausbruch der Krankheiten.

### *Pseudomonas fluorescens*

Dieses gramnegative, 0,5 - 0,8 x 2,3 - 2,8  $\mu$ m lange, stäbchenförmige, Cytochromoxidase-positive und -im Gegensatz zu *Vibrio* und *Aeromonas* - strikt aerobe Bakterium gilt als ubiquitärer Keim, der gewöhnlich aus Gewässern und Böden isoliert werden kann (Palleroni 1984). Diese Art wird als dominierende Komponente der Mikroflora in Süßwasserbereichen beschrieben (Allen et al. 1983). Das Bakterium konnte zudem

beispielsweise im Darmtrakt von Salmoniden (Yoshimizu et al. 1980) und japanischen Flundern (*Paralichthys olivaceus*) festgestellt werden (Tanasomwang & Muroga 1988) und zählt offenbar zur natürlichen Intestinalflora vieler Fische. Zudem wurde *Pseudomonas fluorescens* auch in den Kiemen und auf der Haut verschiedener Süß- und Salzwasserfische nachgewiesen (Simidu et al. 1969, Horsley 1973, Gillspie & MacRae 1975, Gilmour et al. 1976, Austin 1983, Mudarris & Austin 1988). Des weiteren besitzt dieses Bakterium auch eine wichtige Bedeutung beim Verderb von Meeresprodukten (Shewan et al. 1960, Tonogai et al. 1989).

Im Zusammenhang mit Fischkrankheiten beschreibt Plehn (1924) erstmals eine *Pseudomonas*-Infektion beim Spiegel- und Lederkarpfen. Schäperclaus (1926) isolierte *Pseudomonas* aus verletzten Aalen.

Generell tritt dieses Bakterium als Sekundärerreger in geschädigten Geweben auf (Otte 1963). Dabei wird *Pseudomonas fluorescens* in der Regel in Verbindung mit hämorrhagischen bakteriellen Septikämien (Csaba et al. 1984) nachgewiesen und tritt bei Süßwasserfischen auch im Zusammenhang mit Ascites auf (Ahne et al. 1982). Schäperclaus (1979) wies *Pseudomonas fluorescens* in Fischen mit Schwanz- und Flossenfäule nach. Häufig können Mischinfektionen mit Vertretern der "*Aeromonas hydrophila*"-Gruppe festgestellt werden. Klinisch sind *Pseudomonas*-Septikämien nicht von *Aeromonas*-Septikämien zu unterscheiden (Schlotfeldt 1985). Für die zu beobachtenden Gewebsschädigungen werden Proteasen verantwortlich gemacht (Li & Flemming 1967; Li & Jordan 1968; Kobatake et al. 1987).

In den eigenen Felduntersuchungen wurde *Pseudomonas fluorescens* seltener als *Vibrio anguillarum* und motile Aeromonaden aus Fisch-, Wasser- und Sedimentproben und nur gemeinsam mit einem oder mehreren dieser Bakterienarten isoliert, konnte also nur in Mischinfektionen nachgewiesen werden. Die Anwesenheit dieses Bakteriums wurde dabei sehr leicht bereits anhand des gelb-fluoreszierenden, in das Kulturmedium diffundierenden Pigments identifiziert. Auch während der Simulations- und Virulenzexperimente ließ sich diese Art im Aquariumwasser und in den Wunden und teilweise auch im Blut erkrankter Versuchsfische, sowie im Schleim zweier äußerlich unversehrter Tiere feststellen. Auf Blutagar wurde nur für einen von 10 getesteten Wasser-, Sediment- und aus Fischen isolierten Stämmen  $\beta$ -Hämolysenachgewiesen. Bei 3 Stämmen wurde unvollständige Hämolysenachgewiesen, bei den übrigen 6 Stämmen keine hämolytische Aktivität festgestellt.

Aufgrund der eigenen Untersuchungsergebnisse und der aus der Literatur zitierten Angaben kommt dieser Art offenbar keine Bedeutung als Primärerreger der Hautgeschwürkrankheit und der Flossenfäule bei Fischen des Untersuchungsgebietes zu.

#### 4.2.3 Zur Ätiologie der "Gelben Pest"

Die Krankheitsform der "Gelben Pest" konnte trotz intensiver Felduntersuchungen (Möller 1981; 1984) in den Elbe- und Weserästuaren vorher weder beim Kabeljau, noch bei anderen Fischarten beobachtet werden und wurde auch von anderen, fischpathologisch ausgerichteten Arbeitsgruppen im Nordseebereich nicht festgestellt (Anonymus 1989b).

Aus den für das Krankheitsbild typischen gelb-pigmentierten Knötchen konnte ein langes (0,3 - 0,5 x 5 - 20  $\mu$ m), stäbchenförmiges und gramnegatives Bakterium isoliert werden, welches auf Cytophaga -Agar gelbe Kolonien ausbildete und gleitende Bewegung zeigte. Diese phänotypischen Merkmale sind für die Ordnung Cytophagales charakteristisch (Reichenbach & Dworkin 1981). Aufgrund der gleitenden Bewegung des Isolats

kann eine Zugehörigkeit zur Gattung *Flavobacterium* ausgeschlossen werden. Diese Bakterien bilden ebenfalls gelbes Pigment aus, zeigen jedoch keine gleitende Beweglichkeit. Neben den unterschiedlichen GC-Gehalten ist dies das wesentliche Unterscheidungsmerkmal zwischen *Flavobacterium* und der *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe, der der isolierte Stamm demnach zuzuordnen ist. Die für viele Arten dieser Gruppe typischen Flexirubine konnten mit dem KOH-Test (Reichenbach et al. 1974) zwar nicht nachgewiesen werden, allerdings treten diese Pigmente gewöhnlich nur bei terrestrischen und Süßwasserstämmen auf und sind für marine Stämme ungewöhnlich.

Bisher wurden im Zusammenhang mit Fischkrankheiten 3 zur *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe zählende Bakterienarten beschrieben:

- Flexibacter columnaris*, der Erreger der "Columnaris-" oder "Sattelkrankheit", die überwiegend bei Süßwasser- und anadromen Fischen auftritt,

- Cytophaga psychrophila*, der Erreger der ebenfalls im Süßwasser auftretenden "Coldwater" oder "Peduncle Disease" bei Salmoniden und

- Flexibacter maritimus*, ein erstmals von Hikida et al. (1979) als *Flexibacter marinus* beschriebenes und später von Wakabayashi et al. (1986) umbenanntes Bakterium, das bisher nur in marinen Bereichen nachgewiesen werden konnte.

Das durch diesen Erreger hervorgerufene Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch die Ausbildung gelblich pigmentierter Ulzerationen. Krankheitsausbrüche führten in der japanischen Aquakultur zu hohen Mortalitäten bei juvenilen Kulturfischen (Kusuda & Kimura 1982; Wakabayashi et al. 1984, 1986; Baxa et al. 1986).

Die von Kimura & Kusuda (1983) in diesem Zusammenhang beschriebene Symptomatik, die bei *Pagrus major* und *Acanthopagrus schlegelii* festgestellt wurde, ist dem Krankheitsbild der "Gelben Pest" in gewisser Weise ähnlich. Auch hier wurden Erosionen des Maulgewebes und anschließende Ulzerierung der Läsionen als typische Symptome der besonders bei juvenilen Fischen auftretenden Krankheit beschrieben. Aus den Wunden erkrankter Tiere konnten *Flexibacter maritimus* und *Vibrio spec.* isoliert werden. In europäischen Gewässern wurde *Flexibacter maritimus* bisher nur von Bernadet et al. (1990) als Erreger der "Black Patch Necrosis" bei Seezungen (*Solea solea*) beschrieben.

Im Vergleich von 45 phänotypischen Merkmalen (s. 3.4.4) konnte zwischen den Referenzstämmen (*Flexibacter columnaris* (ATCC 49513), *Cytophaga psychrophila* (NCIMB 1947), *Flexibacter maritimus* (NCIMB 2513)) und dem isolierten Stamm in keinem Fall eine vollständige Übereinstimmung festgestellt werden. Wie die anderen Arten, so zeigte auch dieser Stamm keine Indolreaktion. Ein fermentativer Abbau von Arabinose, Glukose, Sucrose, Cellobiose und Mannitol war nicht feststellbar, Gas aus Glukose wurde nicht gebildet. Des weiteren konnte Katalase sowie die Hydrolyse von Casein und Gelatine nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu allen Referenzstämmen wies dieser Stamm jedoch Ornithin-Decarboxylase auf und zeigte gutes Wachstum in TS-Medium. Der Kongo-Rot-Test verlief im Unterschied zu den Referenzstämmen negativ, Aesculin wurde hydrolysiert. Die größte Übereinstimmung phänotypischer Merkmale wurde zwischen *Flexibacter maritimus* und dem untersuchten Stamm festgestellt. Beide Stämme zeigten eine positive Voges-Proskauer-Reaktion und Nitratbildung. H<sub>2</sub>S Produktion konnte nicht beobachtet werden. Bis auf Ampicillin -



*Flexibacter maritimus* zeigte hier keine Sensitivität- wurden für das getestete Antibiotikasppektrum die gleichen Sensitivitäten ermittelt.

Wie auch für den *Flexibacter maritimus*-Stamm konnte nach 14-tägiger Inkubation kein Wachstum bei 5 °C festgestellt werden. Die "Gelbe Pest" trat jedoch nur während der Wintermonate bei Temperaturen zwischen 2 und 8 °C auf. Daß in vitro kein Wachstum bei 5 °C erfolgte, kann nur hypothetisch auf die unter Umständen nicht optimalen Kulturbedingungen zurückgeführt werden (Wahl des Mediums, Dauer der Kultivierung unter Laborbedingungen).

Auffallend ist auch das beobachtete gute Wachstum in TS-Medium, da Cytophagen gewöhnlich nur auf nährstoffarmen Medien gutes Wachstum zeigen (Reichenbach & Dworkin 1981). Allerdings wurde für das nährstoffreichste Medium (Marine - Nährlösung) das schlechteste Wachstum festgestellt.

Aufgrund der in dieser Arbeit aufgezeigten Unterschiede phänotypischer Merkmale und aufgrund der durch Dr. Bernadet (Jouy-en-Josas, Frankreich, pers. Mitt.) zusätzlich durchgeführten Untersuchungen, kann der isolierte Stamm keiner der drei bekannten, fischpathogenen *Flexibacter-Cytophaga*-Arten zugeordnet werden, ist aber aufgrund der o. g. Eigenschaften zur *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe zu zählen.

Aufgrund der erheblichen Regression befallener Gewebe und aufgrund bisher nicht beobachteter Heilungsstadien, wurde bisher angenommen, daß die Krankheit für infizierte Tiere letal sei. Als weiteres Argument für eine hohe, krankheitsbedingte Mortalität wurden außerdem die niedrigen, während der bisherigen Untersuchungen festgestellten Befallsraten gewertet (Hilger et al. 1991, Anders & Möller 1991).

In den beschriebenen Infektionstests konnte eine Pathogenität des untersuchten Stammes jedoch nicht festgestellt werden. Zudem kam es in einem Versuch, in dem ein erkranktes Tier zusammen mit anderen, äußerlich unversehrten, juvenilen Kabeljaus über einen längeren Zeitraum von 3 Monaten gehältert wurde, bei keinem der gesunden Tiere zum Ausbruch der Krankheit. Demnach sind die niedrigen im Feld festgestellten Befallsraten also vermutlich auf die geringe Infektiosität der Krankheit zurückzuführen. Das massenhafte Auftreten dieser Bakterienart in den für das Krankheitsbild typischen gelben Knötchen, das in Quetschpräparaten beobachtet werden konnte, weist jedoch daraufhin, daß dieser Stamm für die Pathogenese von Bedeutung ist. Die sukzessiv zu beobachtende Ausbildung von Hämorrhagien kann als Superinfektion anderer, opportunistischer Bakterien gewertet werden.

Auch andere Autoren berichten von der Schwierigkeit, die ätiologische Beziehung zwischen Vertretern der *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe und Fischkrankheiten nachzuweisen (Bullock 1972; Bullock et al. 1975). Die bei Salmoniden auftretende "Bakterielle Kiemenkrankheit" konnte mit den Bakterien allein nur in seltenen Fällen reproduziert werden (Fish 1935; Ordal & Rucker 1944; Rucker et al. 1952).

Trotz des im Versuch bei dem erkrankten Tier zu beobachtenden starken Substanzverlustes des Unterkiefergewebes, zeigte dieses Tier auch noch nach 3 Monaten Hälterung normales Freßverhalten. Ein aufgrund des eingeschränkten Freßvermögens und aufgrund von Septikämien vermuteter schneller Tod trat nicht ein.

Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß diese Feststellung nur durch diesen einen Versuch belegt ist. In welcher Weise die Infektion erfolgt, kann nur hypothetisch beantwortet werden. Zu dem Zeitpunkt, zu dem

die 0-Gruppen Tiere in das Ästuar einwandern, gehen sie auch von der pelagischen Lebensweise zum Grundleben über und beziehen ihre Nahrung von dort. Da die Krankheit in der Regel lokal im Maulbereich der Tiere auftritt, ist eine Verletzung bei der Nahrungsaufnahme und Schaffung primärer Eintrittspforten für Mikroorganismen denkbar. Eine Infektion über das Wasser, Sediment oder die Nahrung ist möglich. Cytophagen sind Zersetzer natürlicher Polymere wie Zellulose, Chitin, Pectin, Keratin und Protein. Hohe Cytophagendichten werden in der Regel in organisch stark belasteten Gewässern gefunden. In küstennahen Gebieten und Ästuaren wurden Cytophagen zudem auf lebenden und toten Algen, in aeroben Sedimenten und auf verwesendem Seegetier, wie z.B. Krebsen festgestellt (Reichenbach & Dworkin 1981). Des weiteren wurden Vertreter der Gattungen *Flexibacter* und *Cytophaga* auch auf der Haut von Steinbutts (Austin 1983) und Lachsen (Horsley 1973) nachgewiesen. Selbst Fischeier werden von Cytophagen besiedelt (Bell et al. 1971; Yoshimizu et al. 1980).

Das auf das Winterhalbjahr beschränkte Auftreten der "Gelben Pest" ist vermutlich auf das Wanderverhalten juveniler Kabeljaus zurückzuführen, die erst zu dieser Jahreszeit in die Ästuargebiete einwandern. Auf der anderen Seite stellten auch andere Autoren durch verschiedene *Flexibacter*-Arten hervorgerufene Krankheitsausbrüche überwiegend in der Winterzeit, nicht aber während der Sommermonate fest (Kuo et al. 1981).

Warum die beschriebene Krankheit nur bei juvenilen Kabeljaus auftritt und bei größeren Tieren nicht feststellbar war, konnte mit den durchgeführten Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Als ein Grund könnte die bei größeren Fischen höher entwickelte Immunabwehr genannt werden. So treten durch *Cytophaga* oder *Flexibacter*-Arten hervorgerufene hohe Befalls- und Mortalitätsraten auch in der Aquakultur vielfach gerade bei Jungfischen auf (Conrad & DeCew 1967; Holt 1972; Wakabayashi et al. 1986, Yoshimizu et al. 1980).

#### **4.3 Bewertung hydrophysikochemischer und bakteriologischer Umweltparameter**

##### **4.3.1 Temperatur und Salzgehalt**

Fische besitzen eine obere und untere Temperatur-Toleranzgrenze und verschiedene Temperaturoptima bezüglich Entwicklung, Wachstum, Nahrungsumsetzung und -ausnutzung sowie Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheiten. Diese Optima sind je nach Fischart verschieden und werden durch andere Umweltparameter wie Sauerstoffgehalt, pH-Wert, Konzentration organischer und anorganischer Stoffe sowie die Jahreszeiten beeinflusst (Rosenthal & Munro 1985). So tritt beispielsweise eine Viruserkrankung wie die "Virale hämorrhagische Septikämie" (VHS) nicht unter 2 °C und über 20 °C auf, eine bakterielle Fischerkrankung wie die Furunkulose nicht unter 3,2 °C und über 25 °C auf (Reichenbach-Klinke 1980).

Mit Ausnahme der im November 1989 in der Eider beobachteten hohen Befallsrate von 12,6 % wurden in beiden Flußabschnitten im Sommerhalbjahr höhere Befallsraten als im Winterhalbjahr beobachtet. Auffällig ist vor allem der im Mai und Juni '90 in der Elbe zu verzeichnende schnelle Anstieg der Befallsraten.

In einem Aquarienversuch wurde ein solch schneller Temperaturanstieg simuliert. Gegenüber dem

Kontrollbecken mit konstanten 10 °C wurden bei steigender Temperatur (10-19 °C) deutlich mehr Krankheitsausbrüche festgestellt (6 Flundern mit Hautgeschwüren und Flossenfäule gegenüber 1 Flunder mit Flossenfäule). Im Becken mit steigender Temperatur starben 4 der erkrankten Tiere, im Kontrollbecken nur 1 Tier. Auch in den anderen mit unterschiedlichen Salzgehalten durchgeführten Simulationsexperimenten wurden in allen Fällen mit steigenden Temperaturen zunehmende Befallsraten ermittelt.

Neben diesem Temperatureffekt konnte im Feld auch ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten der beschriebenen Krankheiten und den Salzgehalten festgestellt werden. In der Elbe wurden zwischen Freiburg und Cuxhaven Salzgehalte zwischen  $5$  und  $25 \times 10^{-3}$  ermittelt. Der Anteil geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Tiere war hier signifikant höher als im Bereich zwischen Stade und Mühlenberger Loch ( $1,5 - 3,6$  % erkrankte Flundern gegenüber  $0,4 - 1,2$  %). Dort wurden Salzgehalte zwischen  $0,6$  und  $1,3 \times 10^{-3}$  bestimmt.

In der Eider konnten noch oberhalb Tönning's Salzgehalte bis zu  $15 \times 10^{-3}$  gemessen werden, die Befallsraten lagen dort noch bei durchschnittlich  $2,5$  %. Vor Friedrichstadt wurden nur noch Salzgehalte zwischen  $0,3$  und  $0,7 \times 10^{-3}$  festgestellt. Krankheitsausbrüche konnten hier nicht beobachtet werden.

Auch in den Simulationsexperimenten zeigte sich ein solcher Salzgehaltseffekt. Die meisten Krankheitsausbrüche waren in beiden Versuchsserien bei konstanten Brackwasserbedingungen zu verzeichnen, die wenigsten im Süßwasser. Bei Salzgehaltsschwankungen ergaben sich etwas niedrigere Befallsraten als unter konstanten Brackwasserbedingungen.

In ähnlichen, mit 0-Gruppen Flundern durchgeführten Versuchen stellte v. Landwüst (1991) höhere Befallsraten mit Flossenfäule unter konstanten Brackwasserbedingungen sowie schwankenden Salzgehaltsbedingungen als im Süßwasser fest. Er wertete Salzgehaltserhöhungen als Streßfaktor für diese Längengruppe. Allerdings zeigen 0-Gruppen Flundern unter natürlichen Bedingungen eine deutliche Süßwasserpräferenz, die größeren Längenklassen treten jedoch gehäuft in den Brackwasserbereichen der untersuchten Flußabschnitte auf.

Sowohl die eigenen, als auch die von v. Landwüst ermittelten Untersuchungsergebnisse zeigen außerdem, daß unter schwankenden Salzgehaltsbedingungen niedrigere Befallsraten auftreten, als im Vergleich unter konstanten Brackwasserbedingungen. v. Landwüst fand zudem, daß das Wachstum unter derartigen Bedingungen nicht schlechter war, als bei Tieren, die unter konstanten Brackwasserbedingungen gehalten wurden. Offenbar wirken sich Salzgehaltsfluktuationen nicht negativ auf die Physiologie der Flundern aus.

Auch Möller (1988) stellte in seinen zwischen 1984 und 1986 in der Unterelbe durchgeführten Untersuchungen stromabwärts eine deutliche Zunahme geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Flundern fest. Für die Längengruppe 12-25 cm ermittelte er an 3 Stationen des zentralen Ästuars Befallsraten zwischen  $4,5$  und  $5,1$  %, im Abschnitt zwischen Glückstadt und Mühlenberger Loch waren es nur  $0 - 0,9$  %. Die meisten Krankheitsfälle wurden dabei ebenfalls während der Sommermonate festgestellt.

Vethaak (in press) stellte bei seinen 1988 im niederländischen Wattenmeer und angrenzenden Gebieten durchgeführten Untersuchungen die höchsten Prävalenzen geschwürkranker Flundern auf 2 Wattenmeerstationen fest, während er für Süßwasserstationen deutlich niedrigere Befallsraten bestimmte (47,1 und 39,1 % gegenüber < 3 %). Auf fast allen Stationen konnte er eine Zunahme der Befallsraten im Zeitraum zwischen Juli und September ermitteln.

Wiklund (1991) beobachtete in seinen zwischen 1987 und 1989 in finnischen Küstengewässern durchgeführten Untersuchungen an 8 verschiedenen Stationen zwischen 1,8 und 10,8 % geschwürkranke Flundern. Dabei stellte er eine deutliche Korrelation zwischen Temperaturen und Befallsraten fest. Die höchsten Prävalenzen konnten auch hier während der Sommermonate (Juli, August, September) beobachtet werden.

Im Unterschied zu den anderen Untersuchungen zeigt diese Arbeit, daß die Hautgeschwürkrankheit auch in Gebieten mit niedrigen Salzgehaltskonzentrationen in nicht unerheblichen Maße auftreten kann.

Insgesamt läßt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Befallsraten und den beiden diskutierten Parametern Temperatur und Salzgehalt feststellen. Die durchgeführten Simulationsexperimente zeigen, daß sich besonders schnelle Temperaturanstiege und hohe Salzgehalte direkt auf den Krankheitsausbruch auswirken können. Diese Schlußfolgerung kann gezogen werden, da bezüglich anderer Parameter wie Bakteriendichten, Sauerstoffverhältnisse sowie Ammonium-, Nitrat- und Nitritkonzentrationen während der Versuche zwischen den Becken nur geringe Unterschiede und Schwankungen auftraten.

#### 4.3.2 Hydrochemische Parameter

##### Sauerstoff

Sauerstoff stellt für Fische einen limitierenden Faktor dar. Der Sauerstoffbedarf und der kritische Wert variieren nach Fischart und sind abhängig von der Umgebungstemperatur und der Aktivität des Fisches (bei höheren Temperaturen ist der Sauerstoffbedarf generell höher). Werden Fische über einen längeren Zeitraum ungünstigen Sauerstoffverhältnissen oder -schwankungen ausgesetzt, so kann es zu Wachstumshemmung und zu Mißbildungen kommen (Reichenbach-Klinke 1980). Bei geringen Sauerstoffgehalten ist zudem die Toxizität von freiem  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  erhöht (Larmoyeux und Piper 1973, Scherer 1971).

In organisch stark belasteten Gewässern wie der Unterelbe tritt bedingt durch bakterielle Aktivität eine hohe Sauerstoffzehrung auf. Der Sauerstoffeintrag über die Wasseroberfläche sowie die biogene Belüftung des Wasserkörpers durch assimilierende Pflanzen ist demgegenüber gering (ungünstiges Oberflächen/Volumen-Verhältnis, geringe Lichteindringtiefen aufgrund des hohen Trübstoffgehalts). Letztere nimmt mit zunehmender Tiefe exponentiell ab (ARGE Elbe 1984). Aufgrund der tidenbedingten und durch Wind induzierten hohen Turbulenz, kommt es allerdings in der Regel zur Durchmischung der Wassersäule. Die erstellten Sauerstoffprofile zeigten mit zunehmender Tiefe keine ausgeprägten Gradienten.

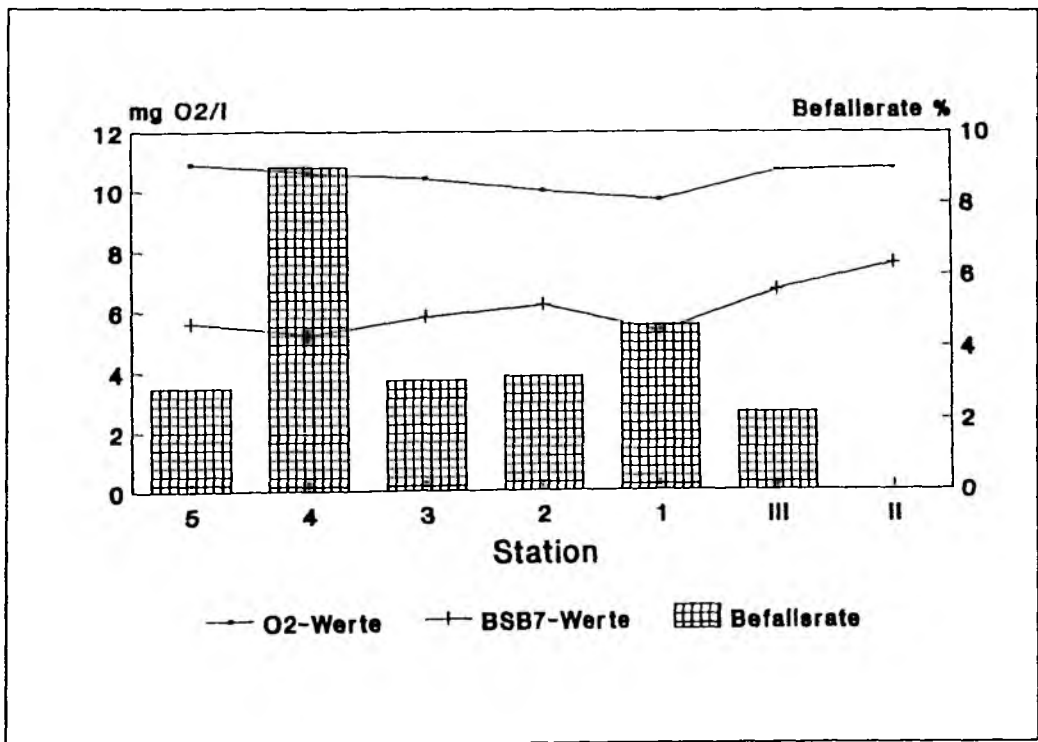
Unterhalb Hamburgs wurde in mehreren Jahren die Ausbildung von Sauerstofftälern im Bereich des Hauptfahrwassers während der Sommermonate beobachtet. Dort traten z. T. Sauerstoffkonzentrationen  $\leq 1 \text{ mg O}_2/\text{l}$  auf. Während des Untersuchungszeitraumes wurden derart niedrige  $\text{O}_2$ -Werte nicht gemessen.

Während zwischen Freiburg und Cuxhaven mit Werten  $> 70\%$  Sättigung für Fische gute Sauerstoffverhältnisse angetroffen wurden, lagen die im Mai '90 zwischen Stade und Mühlenbergerloch festgestellten Werte von 21 - 33 % Sättigung in einem Bereich, der für viele Fische bereits kritisch ist (Rosenthal & Munro 1985). In der Eider wurden für die befischten Stationen hingegen mit 80 -100% Sättigung generell gute Sauerstoffverhältnisse vorgefunden.

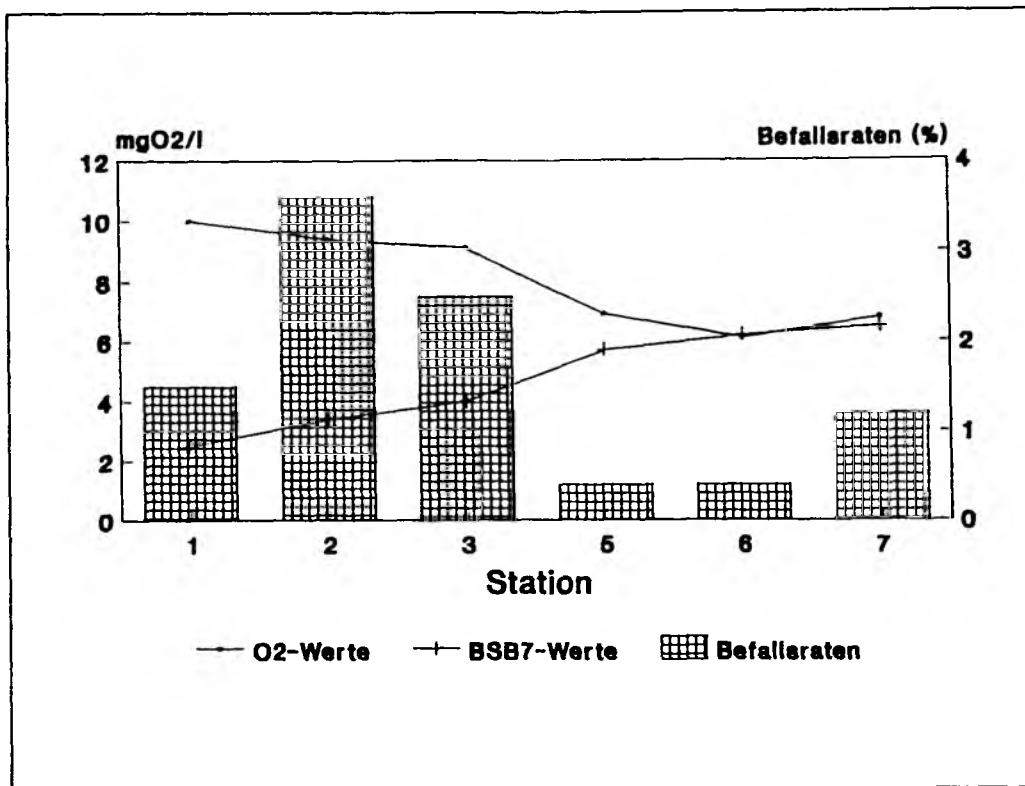
Muus (1967) stellte große Flunderdichten noch bei  $1 \text{ mg O}_2/\text{l}$  fest. Der experimentell ermittelte kritische Wert lag noch darunter. Danach stellten die niedrigsten, während der eigenen Untersuchungen gefundenen Sauerstoffwerte keine wesentliche Beeinträchtigung der Flundern dar.

Für die Stationen, für die die höchsten Befallsraten ermittelt wurden, konnten zudem gute Sauerstoffbedingungen vorgefunden und niedrigere  $\text{BSB}_7$ -Werte als für die weiter stromaufwärts gelegenen Stationen bestimmt werden. In der Eider ließen sich im Vergleich zur Elbe die besseren Sauerstoffbedingungen nachweisen. Trotzdem wurden hier höhere Befallsraten festgestellt (s. Abb. 4.1 und 4.2).

Aufgrund dieser Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, daß Sauerstoff im Untersuchungsgebiet keinen Streßfaktor für Flundern darstellt. Ein Zusammenhang zwischen den Sauerstoffverhältnissen und dem Auftreten der Hautgeschwürkrankheit und der Flossenfäule konnte nicht ermittelt werden.



**Abb. 4.1** Vergleich der Befallsraten zu den Sauerstoffkonzentrationen und -zehrungen ( $\text{BSB}_7$ ) in der Eider (angegeben sind Mittelwerte)



**Abb. 4.2** Vergleich der Befallsraten zu den Sauerstoffkonzentrationen und -zehrungen in der Elbe (angegeben sind Mittelwert)

### Ammonium

$\text{NH}_3$  entsteht als Endprodukt des proteolytischen Abbaus von Proteinen. Besonders durch Abwässer und Düngemittel kann  $\text{NH}_3$  zusätzlich in die Gewässer eingetragen werden (Rheinheimer 1991). Freies Ammoniak stellt für Fische ein starkes Gift dar. Bereits geringe Konzentrationen bewirken Änderungen im Kohlenhydrat- und Stickstoffmetabolismus, höhere Konzentrationen können zu Anoxie und Tod der Fische führen (Nemcsok et al. 1984). Als weitere Schädigungen können Hyperplasien in Fischkiemen auftreten.

In Abhängigkeit vom pH-Wert und der Temperatur dissoziiert  $\text{NH}_3$  in die ungiftige Ammonium Base. Mit steigendem pH-Wert nimmt der Anteil des freien  $\text{NH}_3$  exponentiell zu. Dabei ist die Hydrolyse des  $\text{NH}_4$  im Salzwasser größer als im Süßwasser, sodaß bei gleichem pH und Gesamtammoniumgehalt geringere  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen vorliegen (Whitfield 1974).

Die "European Inland Advisory Commission" gibt eine generelle Verträglichkeitsgrenze von  $0,025 \text{ mg NH}_3/\text{l}$  für Fische an (EIFAC 1973). Alderson (1979) fand jedoch in Untersuchungen mit Seezungen und Steinbutts, daß das Wachstum der Versuchstiere bei wesentlich höheren Konzentrationen von  $0,08 \text{ mg NH}_3/\text{l}$  (Seezunge) und  $0,13 \text{ mg NH}_3$  (Steinbutt) gegenüber den Kontrollfischen nur unwesentlich beeinträchtigt wurde.

In der Eider ließen sich im Untersuchungszeitraum  $\text{NH}_4$ -Werte zwischen  $48$  und  $610 \text{ } \mu\text{g NH}_4/\text{l}$  feststellen, in der Elbe Werte zwischen  $45$  und  $1468 \text{ } \mu\text{g/l}$ . Für einen pH-Wert von pH 8 ergeben sich nach Emerson et al. (1975) für die maximalen Ammoniumkonzentrationen und die zum entsprechenden Zeitpunkt festgestellten Temperaturen maximale  $\text{NH}_3$ -Werte von  $0,006$  (Eider) und  $0,019 \text{ mg/l}$  (Elbe). Diese Werte dürften tatsächlich

noch etwas niedriger liegen, da die benutzten Umrechnungsfaktoren für Süßwasserverhältnisse bestimmt wurden, der Anteil freien Ammoniaks am Gesamtammonium im Meerwasser bei gleichem pH und gleicher Temperatur gegenüber dem Süßwasser jedoch geringer ist.

Während der Simulationsexperimente wurden gegenüber den Feldbedingungen insgesamt niedrigere  $\text{NH}_4$ -Konzentrationen zwischen 13 und 131  $\mu\text{g NH}_4/\text{l}$  ermittelt. Für den maximalen  $\text{NH}_4$ -Wert läßt sich für die entsprechende Temperatur (13 °C) eine  $\text{NH}_3$ -Konzentration von 0,003 mg/l berechnen.

Damit liegen die maximalen, während der eigenen Untersuchungen festgestellten  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen deutlich unter den noch als verträglich angegebenen Werten.  $\text{NH}_3$  kommt somit offenbar keine Bedeutung als Streßfaktor zu.

### Nitrit

$\text{NO}_2$  entsteht als Zwischenprodukt bei der Remineralisierung von Ammonium durch bakterielle Nitrifikation. Eine ausgeprägte Nitritation kann in eutrophen Gewässern bei ausreichender Sauerstoffversorgung beobachtet werden (Rheinheimer 1991). Sie ist eng gekoppelt an die Wassertemperaturen wie Rheinheimer (1965a) in seinen Elbuntersuchungen feststellte.

Nitrit ist für Vertebraten toxisch. Der toxische Effekt wird durch die Transformation von Hämoglobin in Methämoglobin, welches kein  $\text{O}_2$  aufnehmen kann, erzielt. Durch die Bildung von Methämoglobin kann es bei subletalen Dosen zu Gewebshypoxien kommen (Watenpugh & Breitingen 1985).

$\text{NO}_2$  kann aus dem umgebenden Milieu im Austausch mit Chlorid und Bicarbonat über die Kiemen in das Blut von Fischen gelangen (Eddy & Williams 1987). Für die  $\text{LC}_{50(96)}$  (Letalkonzentration für 50% der Versuchstiere bei einer Expositionszeit von 96 Stunden) wurden Werte zwischen 0,19 (Regenbogenforellen) und 7,55 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$  ermittelt (Konikoff 1975; Russo et al. 1974). Lewis und Morris (1986) geben einen durchschnittlichen  $\text{LC}_{50(96)}$ -Wert von 2,0 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$  an. Besonders Salmoniden sind im Vergleich zu anderen Arten sehr sensitiv.

In den eigenen Untersuchungen wurden in der Eider 0,100 - 0,202 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$ , in der Elbe 0,063 - 0,214 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$  festgestellt. In den Simulationsexperimenten waren es zwischen 0,001 und 0,064 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$ . Somit lagen nur die im Feld beobachteten Maximalwerte an der unteren Grenze des in der Literatur angegebenen Letalbereiches. Andere Autoren geben allerdings sehr viel höhere  $\text{NO}_2$ -Konzentrationen für die Unterelbe an. So konnten Lucht (1964) und Rheinheimer (1965a) zwischen Blankenese und Stadersand bis zu 2 mg  $\text{NO}_2/\text{l}$  nachweisen.

Da jedoch die niedrigsten Nitritkonzentrationen in der Elbe dort festgestellt wurden, wo die Befallsraten am höchsten lagen und auch für die Eider kein Zusammenhang zwischen  $\text{NO}_2$ -Konzentrationen und Befallsraten beobachtet werden konnte, kann bezüglich der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule davon ausgegangen werden, daß Nitrit als Streßfaktor keine Bedeutung hat.

## Nitrat

$\text{NO}_3$  stellt die Endstufe der bakteriellen Nitrifikation dar. Ebenso wie hohe  $\text{NO}_2$ -Werte weisen hohe Nitratkonzentrationen auf eine starke organische Belastung eines Gewässers hin (Rheinheimer 1991). Während die toxische Wirkung von  $\text{NH}_3$  und  $\text{NO}_2$  für Fische bereits beschrieben wurde, gibt es bisher jedoch keine Berichte, die eine vergleichbare Toxizität auch für  $\text{NO}_3$  belegen (Russo 1984). Kneep & Arkin (1973) untersuchten den Einfluß von bis zu 400 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  und fanden keine erhöhte Sterblichkeit oder Beeinträchtigung des Wachstums beim amerikanischen Katzenwels. Für Karpfen wurden sogar Toleranzwerte bis zu 1000 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  festgestellt. Allgemein wird ein Richtwert von 200 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  angegeben, der nicht überschritten werden sollte (Rosenthal & Munro 1985).

Die ermittelten Felddaten lagen zwischen 0 und 20,2 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  in der Eider und 0,1 - 27,4 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  in der Elbe. Während der Simulationsexperimente wurden Durchschnittswerte von 1,6 - 2,6 mg  $\text{NO}_3/\text{l}$  ermittelt. Alle festgestellten Nitratkonzentrationen liegen somit unter den in der Literatur beschriebenen Toleranzwerten.

Weder anhand der Felddaten, noch anhand der während der Hälterungsversuche festgestellten  $\text{NO}_3$ -Konzentrationen läßt sich ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule und den Nitratkonzentrationen nachweisen. So ließen sich während der Simulationsexperimente die höchsten Befallsraten bei den niedrigsten  $\text{NO}_3$ -Werten feststellen. Im Untersuchungsgebiet der Eider und Elbe wurden die höheren  $\text{NO}_3$ -Konzentrationen für die weiter flußaufwärts gelegenen Stationen ermittelt. Die höchsten Prävalenzen konnten hingegen in den zentralen Ästuaren festgestellt werden (Abb. 4.3 und 4.4).

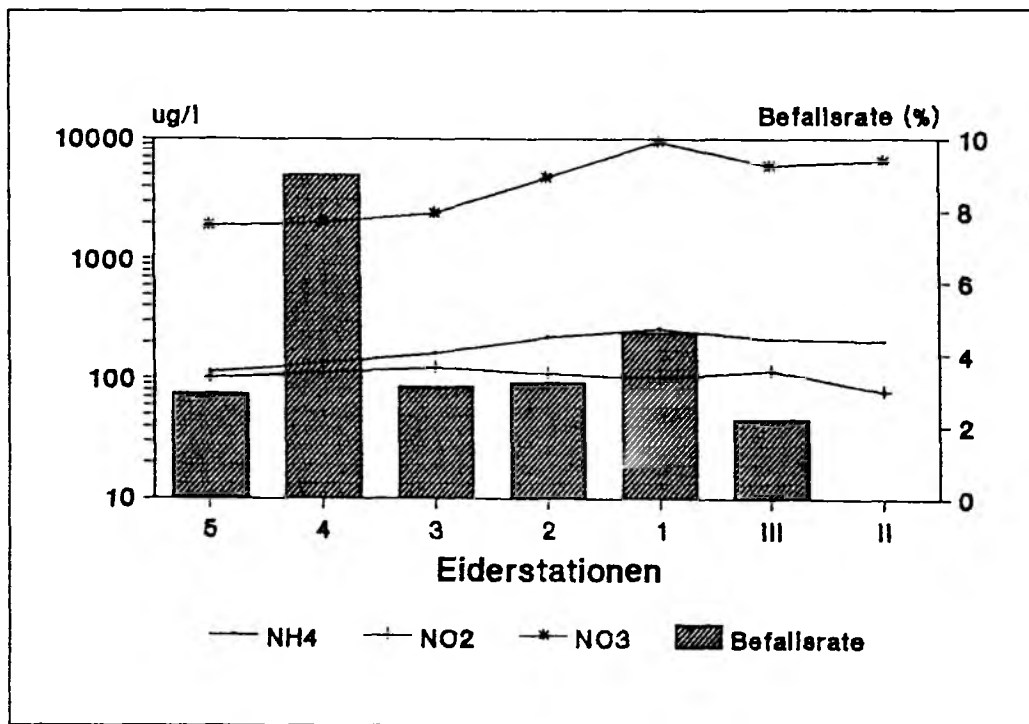


Abb. 4.3 Vergleich der Befallsraten zu den Ammonium-, Nitrit- und Nitratwerten in der Eider (angegeben sind Mittelwerte)



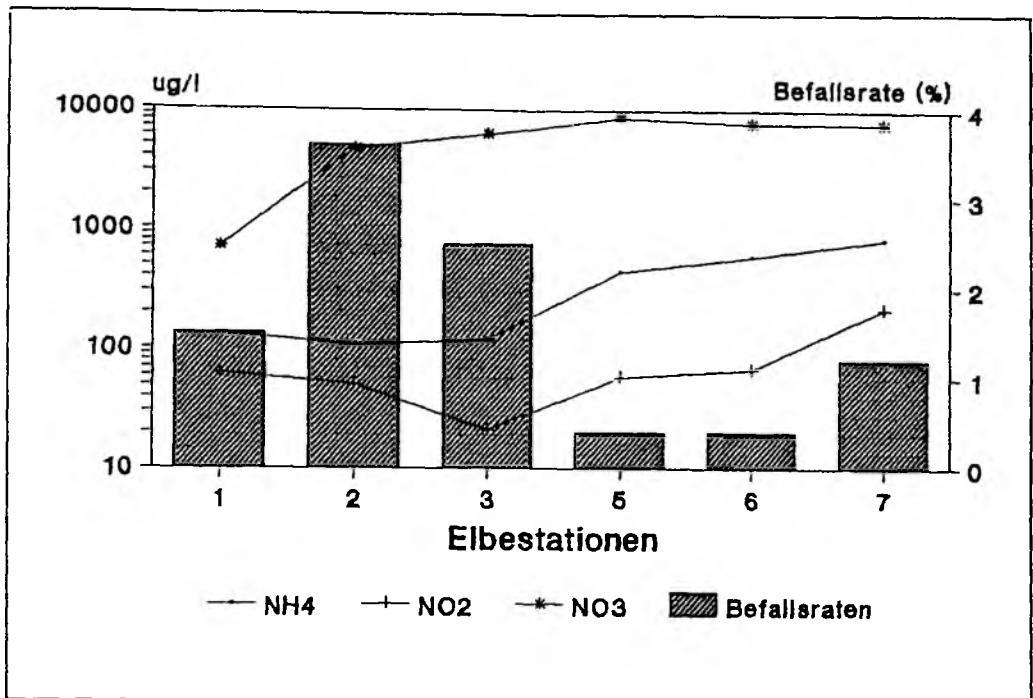


Abb. 4.4 Vergleich der Befallsraten zu den Ammonium-, Nitrit- und Nitratwerten in der Elbe (angegeben sind Mittelwerte)

#### pH - Werte

Der natürliche Säuregehalt, die Karbonatalkalinität und der pH-Wert eines Gewässers wirken sich auf das Verhalten anderer Inhaltsstoffe natürlichen und anthropogenen Ursprungs aus, wie am Beispiel des  $\text{NH}_4$  und  $\text{NO}_2$  schon gezeigt werden konnte. Der pH-Wert bestimmt somit die Wassergüte eines Gewässers wesentlich mit und ~~nimmt damit~~ nimmt damit Einfluß auf die Gesundheit von Fischen. Die pH-Toleranz von Fischen liegt generell zwischen pH 5 und 9. Unterhalb von pH 5 muß mit erhöhter Mortalität gerechnet werden (Rosenthal & Munro 1985). Bei hohen Alkalinitäten können Schäden wie Kiemenverätzungen und Ausfransung von Flossen auftreten (Reichenbach-Klinke 1980).

Die Toleranz ist allerdings artspezifisch unterschiedlich. So berichtet Anders (1992, pers. Mitt.) von Lachsforellen, die über eine längere Expositionszeit Werte bis zu pH 10 unbeschadet überlebten.

Während in Süßgewässern weit streuende pH-Bereiche angetroffen werden können, besitzt Meerwasser aufgrund seiner hohen Karbonatalkalinität eine hohe Pufferkapazität.

Während der Felduntersuchungen wurden bei den stichprobenartig durchgeführten pH-Messungen Werte zwischen 7,5 und 8,1 festgestellt. In anderen Datensätzen werden 7,5 - 8,1 für den untersuchten Eiderabschnitt (Anonymus 1989a) und pH 7,2 - 8,0 für die Unterelbe angegeben (ARGE Elbe 1989). Während der Simulations- und Virulenzversuche ließen sich pH-Werte zwischen 7,7 und 8,1 nachweisen.

Alle ermittelten pH-Werte lagen somit in einem für Fische generell gut verträglichem Bereich.

4.3.3 Bakteriologische Parameter

Fische leben nicht nur in einer "Suspension von Mikroorganismen", ihre der Umgebung exponierten Körperoberflächen werden auch von Mikroorganismen besiedelt. Die Zusammensetzung der bakteriellen Flora auf Eiern, der Haut, den Kiemen und im Intestinaltrakt wird dabei generell durch das aquatische Habitat und variierende Faktoren wie Salinität und Bakteriendichten im Wasser beeinflusst (Cahill 1990). Hypothetisch könnte ein Zusammenhang zwischen den bakteriellen Dichten, insbesondere der Dichte der hier beschriebenen potentiell pathogenen Bakterienarten und dem Auftreten von Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule vermutet werden.

Gesamtbakterienzahl und Saprophyten

Bei den Saprophyten handelt es sich um heterotrophe Bakterien, die leicht angreifbare Nährstoffe wie Proteine und Kohlenhydrate schnell abbauen und sich bei entsprechendem Nährstoffangebot rasch vermehren können. Die Saprophyten stellen einen wichtigen Indikator für derart organisch belastete Gewässer dar. Der prozentuale Anteil der Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl (Rasumow-Koeffizient) steigt dabei mit zunehmender organischer Belastung. Die höchsten GBZ und Saprophytenzahlen wurde in beiden Flußabschnitten für die am weitesten stromaufwärts gelegenen Stationen ermittelt. Flußabwärts gehen die Gesamtbakterienzahlen langsam, die Saprophytenzahlen hingegen deutlich zurück. Seewwärts ist daraus eine deutliche Abnahme der organischen Belastung abzuleiten. Der bereits diskutierte Rückgang von  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$  und  $\text{NO}_2$ , sowie die im Flußverlauf absinkende Sauerstoffzehrung ( $\text{BSB}_7$ ) können entsprechend interpretiert werden.

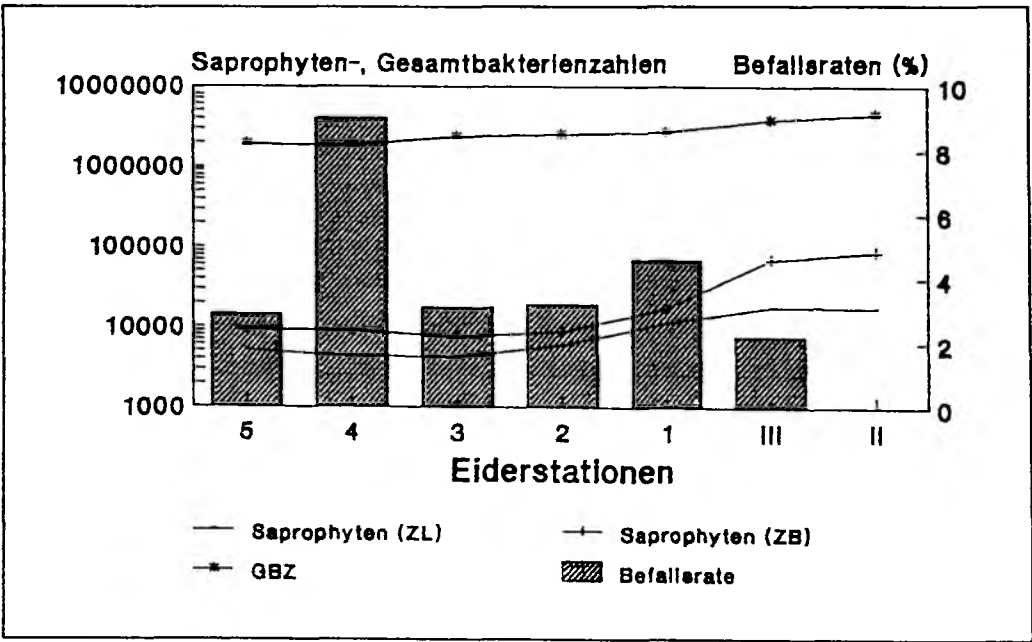


Abb. 4.5 Vergleich der Befallsraten zu den Gesamtbakterien- und Saprophytenzahlen in der Eider (angegeben sind Mittelwerte), ZL = ZoBell Leitungswasser -Medium, ZB = ZoBell Brackwasser -Medium

Wie die Abb. 4.5 und 4.6 zeigen, läßt sich kein Zusammenhang zwischen organischer Verschmutzung, Gesamtbakterien- sowie Saprophytenzahlen auf der einen Seite und den ermittelten Prävalenzen auf der anderen Seite feststellen. Zudem wurden für die Elbe die höheren Bakteriendichten bestimmt, der prozentuale Anteil geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Tiere lag jedoch in der Eider höher.

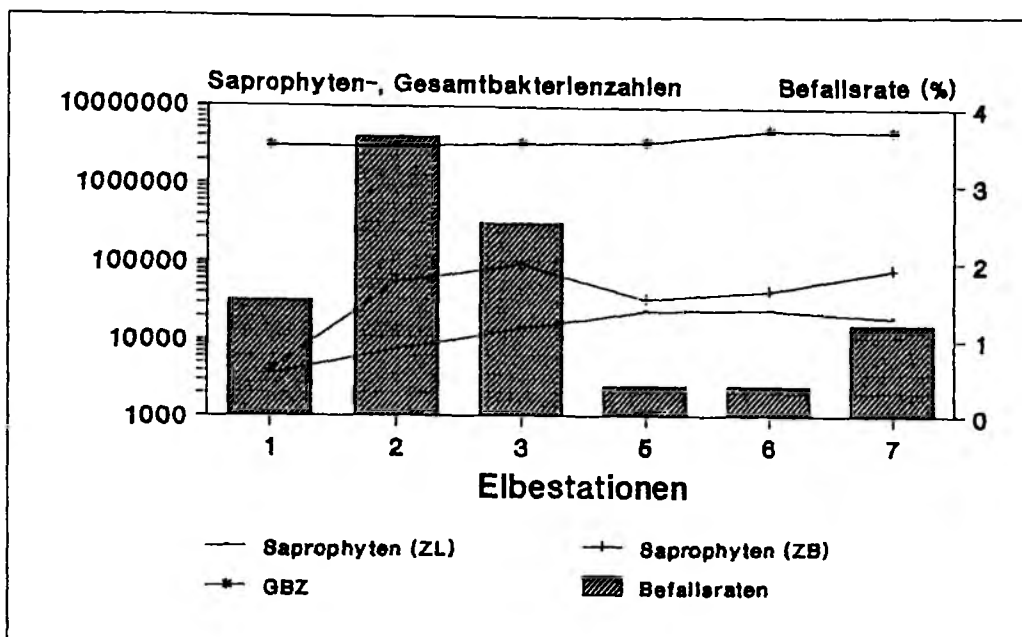


Abb. 4.6 Vergleich der Befallsraten zu den Gesamtbakterien- und Saprophytenzahlen in der Elbe (angegeben sind Mittelwerte), ZL = ZoBell -Leitungswassermedium, ZB = ZoBell-Brackwassermedium

Die aus erkrankten Fischen isolierten Bakterienarten *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae* und *Pseudomonas fluorescens* können aufgrund der hier vorgelegten Ergebnisse zur natürlichen Mikroflora der untersuchten Gewässerabschnitte gezählt werden. Sie konnten während des gesamten Untersuchungszeitraumes aus Wasser - und Sedimentproben isoliert werden. *Vibrio anguillarum* und *Aeromonas hydrophila* wurden auch im Darm von Flundern und Klieschen nachgewiesen. Dabei konnte eine Änderung der Zusammensetzung der Intestinalflora im Flußverlauf beobachtet werden, die der des umgebenden Milieus in etwa entsprach. Ähnliches fanden auch Yoshimizu et al. (1976b) bei ihren Versuchen an pazifischen Lachsen.

Im Wasser der Eider schwankten die "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen zwischen 50 und 21700 Kolonien/ml, in der Elbe zwischen 150 und 26500 Kolonien/ml. In beiden Flüssen konnte flußaufwärts ein Anstieg der Zahlen festgestellt werden. Hohe Dichten ließen sich in beiden Flußabschnitten im November und März ermitteln. Dabei ergibt sich für die *Aeromonas*-Zahlen ein ganz ähnliches Bild wie für die Saprophytenzahlen. Offenbar besteht auch hier ein enger Zusammenhang zwischen dem Angebot leicht abbaubaren organischen Materials und dem Auftreten dieser heterotrophen Bakterien. Eine signifikante Korrelation zwischen organischer Gewässerbelastung und dem Auftreten motiler Aeromonaden wird auch von anderen Autoren berichtet (Araujo et al. 1989, Larsen & Willeberg 1984).

Im Sediment des Untersuchungsgebietes wurden ganz ähnliche Verhältnisse festgestellt. Auch hier war

flußaufwärts eine deutliche Zunahme der "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen zu verzeichnen. Gegenüber den pro ml Wasser festgestellten Dichten, lagen die pro cm<sup>3</sup> Sediment ermittelten Zahlen jedoch um das 10- (Elbe) bis 20-fache (Eider) höher.

Entsprechend den Saprophytenzahlen kann kein Zusammenhang zwischen den Befallsraten und den *Aeromonas*-Zahlen festgestellt werden. Dort wo hohe Dichten auftraten, wurden niedrige Prävalenzen beobachtet. In den zentralen Ästuaren lagen die Zahlen gegenüber den weiter flußaufwärts gelegenen Stationen hingegen um das ca. 3-fache (Elbe) bzw. das ca. 5-fache (Eider) niedriger. Über den gesamten Untersuchungszeitraum und alle Stationen gemittelt ergeben sich für die Elbe mit 4100 Kolonien/ml gegenüber der Eider mit 2500 Kolonien/ml zudem die höheren *Aeromonas* - Dichten. Die höheren Befallsraten wurden jedoch in der Eider festgestellt.

Gegenüber den "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen ließen sich deutlich niedrigere *V. anguillarum*-Zahlen im Wasser des Untersuchungsgebietes feststellen. Im Gesamtdurchschnitt wurden dabei in der Elbe mehr als doppelt so hohe *V. anguillarum* -Zahlen im Wasser des Untersuchungsgebietes ermittelt. In der Eider waren die durchschnittlich höchsten Dichten bei Tönning zu beobachten, in der Elbe zwischen Stade und Mühlenberger Loch.

Pro cm<sup>3</sup> Sediment wurden deutlich höhere *V. anguillarum*-Dichten ermittelt.

Insgesamt traten im Flußverlauf nur geringe Änderungen der *V. anguillarum*-Zahlen auf. In keinem Fall ist ein deutlicher Zusammenhang zwischen diesen Bakteriendichten und den Befallsraten erkennbar, obgleich die *V. anguillarum* - Zahlen seewärts sowohl in der Eider als auch in der Elbe wieder langsam ansteigen (Abb 4.7 und 4.8).

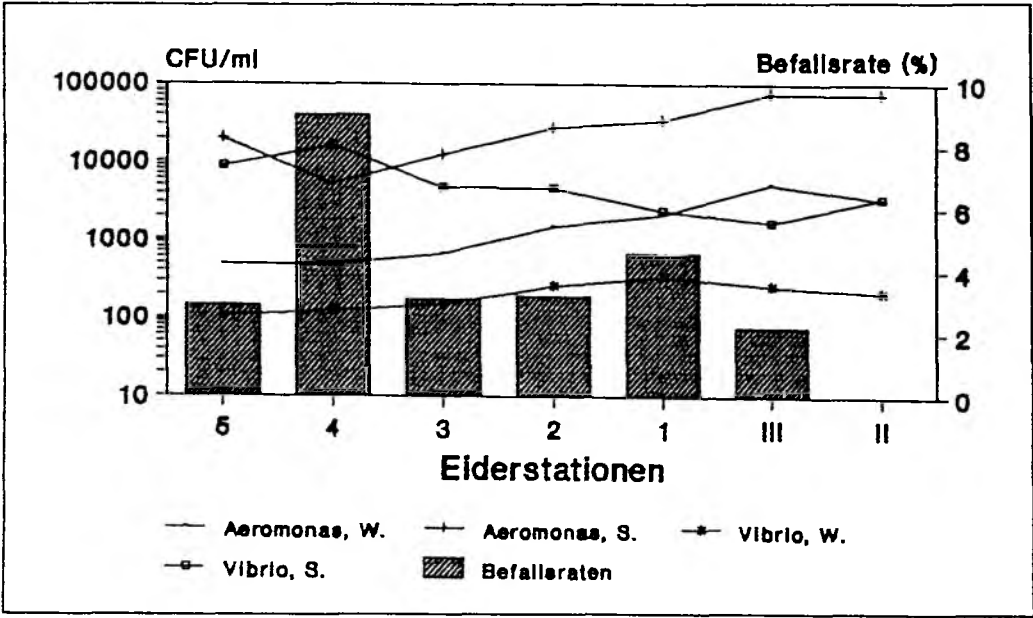


Abb. 4.7 Vergleich der Befallsraten zu den *Vibrio*- und *Aeromonas*-Zahlen in der Eider (angegeben sind Mittelwerte), *Aeromonas*,W. (S.) = im Wasser (Sediment) festgestellte "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen , *Vibrio*, W. (S.) = im Wasser (Sediment) festgestellte *Vibrio anguillarum* -Zahlen

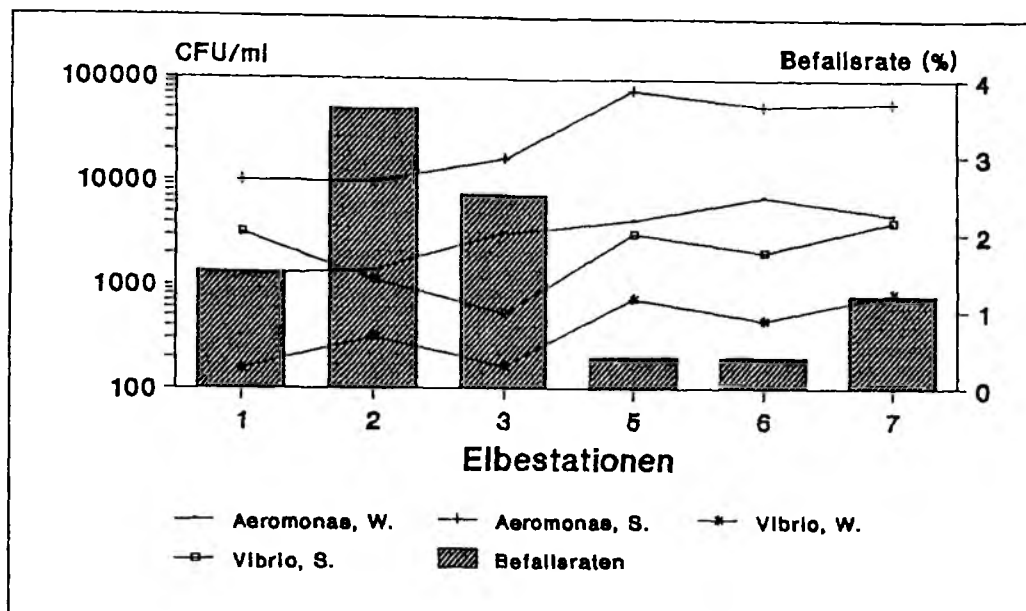


Abb. 4.8 Vergleich der Befallsraten zu den *Vibrio*- und *Aeromonas*-Zahlen in der Elbe (angegeben sind Mittelwerte), *Aeromonas*, W. (S.) = im Wasser (Sediment) festgestellte "*Aeromonas hydrophila*"-Zahlen, *Vibrio*, W. (S.) = im Wasser (Sediment) festgestellte *Vibrio anguillarum*-Zahlen

Im Darm von Flundern und Klieschen aus der Eider konnten mit  $2 \times 10^4$  -  $2 \times 10^6$  Kolonien/g Darminhalt sehr viel höhere Zahlen dieser Bakterienarten gefunden werden. *Vibrio* und *Aeromonas* machten zudem den größten Anteil an der natürlichen Intestinalflora dieser Fische aus. Keines dieser Tiere zeigte jedoch eine äußerlich erkennbare Krankheitserscheinung. Ähnliche hohe *Vibrio* und *Aeromonas*-Zahlen und prozentuale Zusammensetzungen wurden auch von Yoshimizu et al. (1976a) in den Darminhalten von Salmoniden nachgewiesen.

Aus der Gesamtheit dieser Ergebnisse läßt sich folgern, daß die festgestellten Prävalenzen der Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule nicht durch die im Wasser und Sediment auftretende Dichte der beschriebenen potentiell fischpathogenen Bakterienarten erklärt werden können.

#### 4.3.4 Andere Faktoren

Die Symptome der beschriebenen Fischkrankheiten lassen sich aufgrund der hier vorgestellten Ergebnisse und aufgrund von Literaturangaben auf bakterielle Infektionen zurückführen. Zwar persistierten die potentiellen Erreger während des gesamten Untersuchungszeitraumes im Lebensraum der Fische, allein die festgestellten Zellichten müssen jedoch nicht zwangsläufig zum Krankheitsausbruch führen, wie die Virulenzversuche zeigten. Offenbar muß dem Krankheitsausbruch eine starke Vermehrung des Erregers im Fischgewebe vorausgehen.

Für die Anfälligkeit gegenüber bakteriellen Krankheiten wie der Hautgeschwürkrankheit und der Flossenfäule sind neben dem angeführten Temperatur- und Salzgehaltsstreß auch anderen Streßfaktoren denkbar. Möller (1990) führt die hohen Befallsraten im zentralen Ästuar der Elbe auf die dort festgestellte, nahrungsbedingte, schlechte Kondition von Fischen zurück. Das geringe Nahrungsangebot an Zoobenthosorganismen wird in

dieser "Hungerhypothese" auf die hohen Salzgehaltssamplituden, die in diesem Bereich auftreten, zurückgeführt.

Des weiteren stellt sich die Frage nach dem Infektionsweg. Eine Infektion auf oralem Wege kann ausgeschlossen werden, da die potentiellen Erreger -wie gezeigt- zur natürlichen Flora der Fische zählen und keine Enterotoxine besitzen. Ransom (1978) postulierte allerdings, daß dem Ausbruch der Geschwürkrankheit eine starke Vermehrung der Erreger im hinteren Abschnitt des Gastrointestinaltraktes vorausgeht, da bei entsprechend erkrankten Tieren im Anfangsstadium der Krankheit sehr häufig eine Entzündung im Anusbereich beobachtet werden kann.

Dänische Wissenschaftler hingegen fanden als Vorstufe von Ulkusbildungen ein Eindringen von Bakterien in die Epidermis, deren Kolonisation und anschließende Penetration (Miljø-Projekter 1981). Untersuchungen des Fischleims ergaben jedoch, daß das Wachstum von Bakterien in der Regel durch Lysozyme und Immunglobuline stark gehemmt wird (Lindsay 1986; Peleteiro & Richards 1985). Kleine Verletzungen oder verminderte Schleimproduktion könnten die Voraussetzungen für das Eindringen opportunistischer Bakterien in das Fischgewebe darstellen.

In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß die Hautgeschwürkrankheit und die Flossenfäule im Untersuchungsgebiet überwiegend bei Plattfischen auftritt, obgleich *Vibrio*- und *Aeromonas*- Infektionen auch bei anderen Fischarten und Evertebraten beschrieben wurden (siehe 4.2). Plattfische besitzen große, dem umgebenden Lebensraum exponierte Oberflächen. Flundern graben sich im Sediment ein (Muus 1967) und sind dadurch vermutlich einer erhöhten, mechanischen Verletzungsgefahr und bei Auftreten von Läsionen einer höheren Erregerdichte als im Wasser ausgesetzt.

Auch durch den hohen Schwebstoffgehalt im Wasser der Unterelbe könnten die Fische geschädigt werden. So konnten Roberts & Shepherd (1974) und Alderson (1979) zeigen, daß neben Kiemenschädigungen auch mit erhöhter Krankheitsanfälligkeit bei Langzeitexposition gegenüber hohen Schwebstofffrachten zu rechnen ist. Durch hohe Trübstoffgehalte kann es nicht nur zu einer direkten Schädigung der Fische kommen, sondern auch die Primärproduktion durch die Verminderung der Lichteindringtiefe reduziert und damit das Nahrungsangebot für den Fischbestand eingeschränkt sein.

Von nicht unerheblicher Bedeutung für das Auftreten der beschriebenen Krankheiten könnten auch die regionalen Fischabundanz sein. Während der Hälterung von Versuchstieren konnte nach Auftreten von Flossenfäule oder Hautgeschwüren bei einem Tier eine schnelle Krankheitsausbreitung bei kurzen Inkubationszeiten beobachtet werden. Allerdings wurden die Tiere im Versuch dichter gehalten, als im Feld zu beobachten (Muus 1967) war. Dennoch fand auch Vethaak (in press) bei seinen Untersuchungen in holländischen Küstengewässern die höchsten Prävalenzen dieser Krankheiten dort, wo auch hohe Flunderdichten auftraten.

Auch während der eigenen Felduntersuchungen wurden die höchsten Flunderabundanzen im Bereich des zentralen Ästuars ermittelt (siehe Tabelle 3.3). Weder für die Eider noch für die Elbe konnte jedoch eine signifikante Korrelation auf dem 5 % Niveau zwischen den beobachteten Prävalenzen und den Flunderabundanzen festgestellt werden. (Rangkorrelation nach Spearman (Sachs 1988)).

## 5 Zusammenfassung

In den Jahren 1989 und 1990 wurden vergleichende Untersuchungen zur Epidemiologie und Ätiologie bakterieller Fischkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung von Umweltfaktoren in den unterschiedlich stark belasteten Flußabschnitten Unterelbe und -eider durchgeführt. Insgesamt wurden in der Elbe 9900, in der Eider 24606 Fische gefangen und auf äußerlich sichtbare Krankheitserscheinungen untersucht.

Die Arbeiten konzentrierten sich dabei auf die in der akuten Phase der Krankheit durch tiefe nekrotische Ulzera im Bereich der Hautoberflächen charakterisierte Hautgeschwürkrankheit, sowie die durch Flossennekrose und -regression gekennzeichnete Flossenfäule, die im Untersuchungsgebiet überwiegend bei Flundern und anderen Plattfischen auftraten sowie die bisher nur bei juvenilen Kabeljaus festgestellte "Gelbe Pest" mit hauptsächlich im Maulbereich zu beobachtender Ausbildung gelblich-pigmentierter Knötchen und in Folge auftretender Ulzerierung des befallenen Gewebes.

Aus den Läsionen erkrankter Kabeljaus konnte ein aufgrund seiner typischen morphologischen und biochemischen Charakteristika der *Flexibacter-Cytophaga*-Gruppe zuzuordnendes Bakterium isoliert werden. Im Vergleich von 45 phänotypischen Merkmalen konnte zwischen 3 Referenzstämmen der bekannten fischpathogenen Arten *Flexibacter columnaris*, *Cytophaga psychrophila* und *Flexibacter maritimus* und dem isolierten Stamm in keinem Fall eine vollständige Übereinstimmung festgestellt werden.

In Infektionstests ließ sich das Krankheitsbild durch unterschiedliche Behandlung der Fische mit einer entsprechenden Bakteriensuspension primär nicht hervorrufen. Bei der gemeinsamen Haltung erkrankter und gesunder Tiere trat auch auf natürlichem Wege keine Infektion gesunder Tiere auf. Trotzdem kann aufgrund der typisch gelblich pigmentierten Läsionen und den dort festgestellten hohen Dichten dieses Bakteriums davon ausgegangen werden, daß dieser Stamm in der Pathogenese von entscheidender Bedeutung ist.

Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule traten überwiegend bei Flundern  $\geq 10$  cm auf. Für diese Längengruppe wurden in der Elbe Befallsraten zwischen 0,4 und 3,6 %, in der Eider zwischen 0 und 9,0% für die verschiedenen Stationen bestimmt. Die höchsten Prävalenzen ließen sich in den zentralen Ästuaren, in der Elbe bei Neufeld sowie an einer Station in der Außeneider feststellen. Im Jahresverlauf wurden die höchsten Prävalenzen während des Sommerhalbjahres ermittelt. Einzige Ausnahme bildete eine für die Eider im November '89 bestimmte hohe Befallsrate von 12,3 %. Besonders in der Elbe konnte bei schnellem Temperaturanstieg in den Monaten Mai und Juni ein starker Anstieg der Prävalenzen beobachtet werden. Mit einem über den Untersuchungszeitraum gemittelten Wert von 3,9 % ließ sich in der Eider gegenüber der Elbe mit 2,4 % eine höhere, allerdings nicht signifikant höhere Befallsrate ermitteln.

In Simulationsexperimenten traten die meisten Krankheitsfälle bei steigenden Temperaturen und höheren Salinitäten auf. Im Süßwasserbecken und bei niedrigen Temperaturen wurden Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule am seltensten festgestellt.

Neben *Vibrio anguillarum* konnten auch die ebenfalls zur Familie der Vibrionaceae zählenden Bakterienarten *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* und *A. sobria* aus den Läsionen und dem Blut geschwürkranker und von Flossenfäule befallenen Fischen isoliert werden. Weniger häufig ließ sich auch *Pseudomonas fluorescens* nachweisen. In beiden Flußabschnitten wurden dabei  $10^2$  -  $2,4 \times 10^3$  motile Aeromonaden/ml Wasser und  $10^2$  -

$2,4 \times 10^5$  Zellen/cm<sup>3</sup> Sediment nachgewiesen. In der Eider ließen sich *Vibrio anguillarum* - Zahlen bis zu  $3 \times 10^3$ , in der Elbe bis zu  $7 \times 10^3$  Zellen/ml Wasser feststellen. Im Sediment waren es bis zu  $6 \times 10^5$  (Eider) und  $2 \times 10^5$  (Elbe) Zellen/cm<sup>3</sup>.

*Vibrio* und *Aeromonas* ließen sich in Dichten von  $2 \times 10^4$  -  $2 \times 10^6$  Zellen/g Darminhalt von Flundern und Kliesen nachweisen. Die zur Pathogenität isolierter Stämme durchgeführten Untersuchungen ergaben, daß 28 von 30 aus Fischen isolierte *V. anguillarum*-Stämme sowie 24 von 30 entsprechende *A. hydrophila*-Stämme  $\beta$ -hämolytische Aktivität zeigten. Von jeweils 10 Wasserstämmen der gleichen Arten wurde bei je 7  $\beta$ -Hämolysen nachgewiesen. Von 10 getesteten *Pseudomonas fluorescens*-Stämmen ließ sich nur bei einem  $\beta$ -hämolytische Aktivität beobachten.

In Virulenzversuchen kam es nach subkutaner Injektion von  $10^8$  Zellen verschiedener *V. anguillarum*- und *A. hydrophila*-Stämme zur Ausbildung der für die Hautgeschwürkrankheit typischen Krankheitssymptomatik. Dabei wiesen aus Fischen isolierte Stämme eine gegenüber entsprechenden "Wasserstämmen" höhere Virulenz auf. Bei der Injektion von  $10^4$  Zellen kam es nur im Falle der aus Fischen gewonnenen Isolate zu Krankheitserscheinungen im Infektionsbereich, während die Injektion der "Wasserstämmen" in dieser Konzentration keine Symptome hervorrief. Daraus läßt sich folgern, daß die während der Felduntersuchungen festgestellten *V. anguillarum*- und *A. hydrophila*-Dichten nicht zum Ausbruch der Krankheiten führen müssen. Diese Feststellung wird zudem durch die im Feld ermittelte Verteilung der potentiell fischpathogenen Arten gestützt. In beiden Flußabschnitten wurden die höchsten Zellzahlen für die weiter stromaufwärts gelegenen Stationen, die höchsten Prävalenzen hingegen in den weiter flußabwärts gelegenen zentralen Ästuaren bestimmt.

Eine ähnliche Verteilung ließ sich auch für die Gesamtbakterien- (GBZ) und Saprophytenzahlen feststellen. Flußabwärts nahmen die GBZ langsam, die Saprophytenzahlen deutlich ab. Die prozentuale Abnahme der Saprophytenzahlen an den GBZ (Rasumow Koeffizient) weist dabei auf eine im Flußverlauf stetig abnehmende organische Belastung hin. Entsprechendes läßt sich auch anhand der hydrochemischen Parameter belegen. Seewärts konnte eine Abnahme der biochemischen Sauerstoffzehrung, der Ammonium, Nitrit und Nitrat-Konzentrationen und ein Anstieg des Sauerstoffgehalts festgestellt werden. Die pH-Werte lagen überall in einem für Fische gut verträglichem Bereich (pH 7,5 - 8,1).

Insgesamt konnten für die Hautgeschwürkrankheit und Flossenfäule keine krankheitsspezifischen Erreger nachgewiesen werden. Sowohl durch *Vibrio anguillarum*- als auch durch *Aeromonas hydrophila* -Stämme ließen sich Geschwüre hervorrufen. Die Krankheitshäufigkeit läßt sich nicht mit Bakteriendichten, hoher organischer Belastung oder den hohen Konzentrationen chemischer Komponenten und ungünstiger Sauerstoffverhältnisse erklären. Trotz der höheren Belastung der Elbe wurden die höheren Prävalenzen geschwürkranker und von Flossenfäule befallener Flundern in der Eider ermittelt. Zwischen den Flunderabundanzen und den ermittelten Prävalenzen ließ sich keine signifikante Korrelation feststellen. Ein deutlicher Zusammenhang zeigte sich jedoch sowohl unter natürlichen Bedingungen als auch in Simulationsexperimenten zwischen Befallsraten, steigenden Temperaturen und höheren Salzgehalten.



## 6 Literatur

- Abe, P.M. (1972). Certain chemical and immunological properties of the endotoxin from *Vibrio anguillarum*. M. Sc. thesis, Oregon State University, Corvallis.
- Ahne, W.; W. Popp; R. Hoffmann (1982). *Pseudomonas fluorescens* as a pathogen of tench (*Tinca tinca*). Bull. Eur. Ass. Fish Path., 4, 56-57.
- Alderson, R. (1979). The effect of ammonia on the growth of juvenile dover sole, *Solea solea* (L.) and turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). Aquaculture, 17, 291-309.
- Allan, B.J.; R.M.W. Stevenson (1981). Extracellular virulence factors of *Aeromonas hydrophila* in fish infections. Can. J. Microbiol., 27, 10, 1114-1122.
- Allen, D.A.; Austin, B.; Colwele, R.R. (1983). Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. J. Gen. Microbiol., 129, 2043-2062.
- Anders, E. (1992). Persönliche Mitteilung. Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei, Institut für Fischerei, Südstr. 10; O-2328 Born.
- Anders, K.; H. Möller (1989). Fischkrankheiten im Wattenmeer, Teilvorhaben I: Epidemiologische und histopathologische Untersuchungen. Zwischenbericht für den Zeitraum 1987-1989. Forschungsvorhaben Wasser 10204373101, im Auftrage des Landes Schleswig-Holstein, des Umweltbundesamtes und des Landes Niedersachsen.
- Anders, K.; H. Möller (1991). Epidemiologische Untersuchungen von Fischkrankheiten im Wattenmeer. Berichte aus dem Institut für Meereskunde an der Christian-Albrechts-Universität Kiel, Nr. 207.
- Anonymus (1989a). Gemeinsames Bund/Länder-Meßprogramm für die Nordsee - Gewässergütedaten im Küstenbereich der Bundesrepublik Deutschland, Wassergütedaten 1986/87.
- Anonymus (1989b). Report of the working group on pathology and diseases of marine organisms. Comm. Meet. int. Coun. Explor. Sea C. M. - ICES/F: 14.
- Araujo, R.M.; R.M. Arribas; F. Lucena; R. Pares (1989). Relation between *Aeromonas* and fecal coliforms in fresh waters. J. Appl. Bacteriol., 67, 2, 213-217.
- ARGE Elbe (1984). Gewässerökologische Studie der Elbe - Hamburg: Wassergütestelle Elbe.
- ARGE Elbe (1989). Wassergütedaten der Elbe von Schnackenburg bis zur See. Zahlentafeln 1989. Hamburg: Wassergütestelle Elbe.
- ARGE Elbe (1991). Wasserwirtschaftliche Maßnahmen zur Verbesserung des gewässerökologischen Zustands der Elbe - Hamburg: Wassergütestelle Elbe.
- Armstrong, G.W.; J.L. Lake; G.B. Miller (1983). Extraintestinal infections due to halophilic *Vibrios*. South Med. J., 76, 5, 571-574.
- Akiyama, S.; K. Takizawa; H. Ichinoe; S. Enomoto; T. Kobayashi; R. Sakazaki (1963). Application of teepol to isolation of *Vibrio parahaemolyticus*. Jap. J. Bacteriol., 18, 255-256.
- Austin, B. (1983). Bacterial microflora associated with a coastal, marine fish-rearing unit. J. Mar. Biol. Ass. UK, 63, 585-592.

- Austin, B.; D. A. Austin (1987). Bacterial Fish Pathogens: Diseases in Farmed and wild Fish. Ellis Horwood Limited.
- Bachmann, B.; W.P. Boyd; S. Lieb; G.E. Rodrick (1983). Marine noncholera *Vibrio* infections in Florida. South. Med. J., 76, 3, 296-299.
- Bagge, J.; Bagge, O. (1956). *Vibrio anguillarum* som årsag til ulcussygdom hos torsk (*Gadus callaris*, Linné). Nord. Vet.-Med., 8, 481-492.
- Bashford, D.J.; T.J. Donovan; A.L. Furniss; J.V. Lee (1979). *Vibrio cholerae* in Kent. Lancet, 1, 436-437.
- Baumann, P.; R.H.W. Schubert (1984). Section 5. Facultatively anaerobic Gram - negative rods. Family II. Vibrionaceae. In: Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Krieg, N.R.; J.G. Holt (eds) - Baltimore: Williams & Williams Co., 516-517.
- Baxa, D.V.; K. Kawai; R. Kusuda (1986). Characteristics of gliding bacteria isolated from diseased flounder, *Paratylichthys olivaceus*. In: The First Asian Fisheries Forum. McLean, J.L.; L.B. Dizon; L.V. Hosillos (eds.). Asian Fisheries society, Manila.
- Bell, G.R.; G.E. Hoskins; W. Hodgkiss (1971). Aspects of the characterization, identification, and ecology of the bacterial flora associated with the surface of stream-incubating Pacific salmon (*Oncorhynchus*) eggs. J. Fish. Res. Bd. Can., 28, 1511-1525.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984). Krieg, N.R.; J.G. Holt (eds) - Baltimore: Williams & Williams Co.
- Bergmann, A.M. (1909). Die rote Beulenkrankheit des Aals. Bericht aus der Königlichen Bayerischen Versuchsstation, 2, 10-54.
- Bernadet, J.-F; P. A. D. Grimont (1989). Deoxyribonucleic acid relatedness and phenotypic characterization of *Flexibacter columnaris*, sp. nov., nom rev., and *Flexibacter psychrophilus* sp. nov., nom. rev., and *Flexibacter maritimus* Wakabayashi, Hikida, and Masumura 1986. Int. J. System. Bact., 39, 346-354.
- Bernadet, J.F.; A.C. Campbell; J. A. Buswell (1990). *Flexibacter maritimus* is the agent of "black patch necrosis" in Dover sole in Scotland. Dis. Aquat. Org., 8, 233-237.
- Bisgaard, M.R.; R. Sakazaki; T. Shinada (1978). Prevalence of non - cholera vibrios in casum nasi and pharynx of ducks. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B, 86, 221-226.
- Bloch, S.; H. Mantell (1989). Purification and characterization of *Aeromonas hydrophila*  $\beta$ -hemolysin. Toxicon., 27, 12, 1279-1278.
- Bowser, P.R.; R. Rosemark; C.R. Reiner (1981). A preliminary report on vibriosis in cultured American lobsters, *Homarus americanus*. J. Invertebr. Pathol., 37, 80-85.
- Brown, V.I.; E.J.L. Lowbury (1965). Use of improved cetrimide agar medium and other culture methods for *Pseudomonas aeruginosa*. J. Clin. Path., 18, 752-756.
- Bullock, G.L. (1971). Bacterial diseases of fishes. In: Diseases of Fishes, Snieszko, S.F.; Axelrod, H.R. (eds) - Jersey City: T.F.H. Publications.
- Bullock, G.L. (1972). Studies on selected Myxobacteria pathogenic for fishes and on bacterial gill disease in hatchery-reared salmonids. Ber. Sport Fish.Wildl. Techn. Pap., 60.

- Bullock, G.L.; H.M. Stuckey; K. Wolf; P.K. Chen (1975). Bacterial kidney disease of salmonid fishes. US Dept. Int. Fish. Wildl. Techn. Serv. FDL 41.
- Canestrini, G. (1893). La malattia dominante delle anguille. Atti Institute Veneto Service, 7, 809-814.
- Cohill, M.M. (1990). Bacterial flora of fishes: A review. Microb. Ecol., 19, 20-24.
- Colorni, A.; I. Paperna; H. Gordin (1981). Bacterial infections in gilthead sea bream *Sparus aurata* cultured at Elat. Aquaculture, 23, 257-267.
- Colwell, R.R.; J.Kaper; R. Seidler; M.J. Voll; L.A. McNicol; S. Garges; H. Lockman; D. Maneval; E. Remmers; S.W. Joseph; H. Bradford; N. Roberts; I. Huq; A. Huq (1980). Isolation of 01 and non 01 *Vibrio cholerae* from estuaries and brackish water environments. Proc. 15th Joint Conf. Cholera US - Japan Coop. Med. Sci. Prog., 44-65.
- Conrad, J.F.; M. DeCew (1967). Observations on deformed juvenile coho salmon. Fish. Com. Oreg. Briefs, 13, 129.
- Crosa, J.H.; M.H. Schiewe; S. Folkow (1977). Evidence for plasmid contribution to the virulence of fish pathogen *Vibrio anguillarum*. Infect. Immun., 18, 509-513.
- Crosa, J.H. (1980). A plasmid associated with virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum* specifies an iron-sequestering system. Nature, 283, 566-568.
- Crosa, J.H.; L.L. Hodges; M.H. Schiewe (1980). Curing of a plasmid is correlated with an attenuation of virulence in the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. Infect. Immun., 18, 897-902.
- Csaba, G.; M. Prigly; E. Kovacs-Gayer; L. Bekesi; E. Bajmocy; B. Fazeka (1984). Septicaemia in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) and bighead carp (*Aristichthys nobilis* Rich.) caused by *Pseudomonas fluorescens*. Fish Path. Env. Europ. Polycul. Symp. Biol. Hung., 23, 75-84.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (1984). Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes, iodometrisches Verfahren nach Winkler (G21) DIN 38 408, Teil 21 - Weinheim: Chemie.
- DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (1987). Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Bestimmung der Sauerstoffzehrung (H52) DIN 38 409 , Teil 52 - Weinheim: Chemie.
- Droin de Boville, R. (1907). Les maladies des poisson d'eau douce de Europe. An. Sci. Agron., 1, 120-250.
- Eddy, F.B.; E.M. Williams (1987). Nitrite and freshwater fish. Chem. Ecol., 3, 1, 1-38.
- EIFAC(European Inland Fisheries Advisory Commission) (1973). Water quality criteria for European fish. Report on ammonia and inland fisheries. Water Res., 7, 1011-1022.
- Ellington, E.P.; J.G. Wood; E.O. Hill (1982). Disease caused by a marine vibrio - *Vibrio vulnificus*. N. Engl. J. Med., 307, 26, 1642.
- Emerson, K.; R.C. Russo; R.E. Lund; R.V. Thurston (1975). Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. J. Fish Res. Board Can., 32, 2379-2383.
- Evelyn, T.P.T. (1971). First records of vibriosis in Pacific salmon cultured in Canada, and taxonomic studies of the responsible bacterium *Vibrio anguillarum*. J. Fish. Res. Board Can., 28, 517-525.
- Fiedler, M. (1983). Nahrungsuntersuchungen an Elbfischen. Diplomarbeit, Universität Kiel.

- Fiedler, M. (1990). Die Bedeutung von Makrozoobenthos und Zooplankton der Unterelbe als Fischnahrung. Dissertation, Universität Kiel.
- Fish, F.F. (1935). A western type of bacterial gill disease. Trans. Am. Fish. Soc., 65, 85-87.
- Gillespie, N. C.; I. C. MacRae (1975). The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage. J. Appl. Bacteriol., 39, 91-100.
- Gilmour, A.; M.F. McCallum; M.C. Allan (1976). A study of the bacterial types occurring on the skin and in the intestines of farmed plaice, *Pleuronectes platessa*. Aquaculture, 7, 161-172.
- Graßhoff, K.; M. Ehrhard; K. Kremling (1983). Methods of Seawater Analysis - Weinheim: Chemie.
- Grisez, L.; R. Ceusters; F. Ollevier (1990). The use of API 20E for the identification of *Vibrio anguillarum* and *V. ordalii*. Bacterial Diseases of Fish. Int. Sci. Conf., University of Stirling.
- Hacking, M.A.; J. Budd (1971). *Vibrio* infection in tropical fish in a freshwater aquarium. J. Wildl. Dis., 7, 273-280.
- Hikida, M.; H. Wakabayashi; S. Egusa; K. Masumura (1979). *Flexibacter* sp., a gliding bacterium pathogenic to some marine fishes in Japan. Bull. Jap. soc. sci. Fish., 45, 421-428.
- Hilger, I. (1990). Kondition und Gesundheitszustand des Dorsches im Wattenmeer 1988-1989. Diplomarbeit, Kiel.
- Hilger, I.; S. Ullrich; K. Anders (1991). A new ulcerative flexibacteriosis-like disease ("Yellow pest") affecting young Atlantic cod *Gadus morhua* from the German Wadden Sea. Dis. Aquat. Org., 11, 19-29.
- Hofer, B. (1904). Handbuch der Fischkrankheiten. Allg. Fischereiz., München.
- Holt, R.A. (1972). Characterization and control of *Cytophaga psychrophila* (Borg) the causative agent of low temperature disease in young coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Mast. thes., Oregon State University, Corvallis.
- Horsley, R. W. (1973). The bacterial flora of the atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in relation to its environment. J. Appl. Bacteriol., 36, 377-386.
- Hoshina, T. (1956). An epidemic disease affecting rainbow trout in Japan. Journal of Tokyo University, Fisheries, 42, 15-16.
- Inamura, H.; K. Muroga; T. Nakai (1984). Toxicity of extracellular products of *Vibrio anguillarum*. Fish Pathology, 19, 89-96.
- Kanai, K.; H. Wakabayashi (1984). Purification and some properties of protease from *Aeromonas hydrophila*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 50, 8, 1367-1374.
- Kaysner, C.A.; C. Abeyta; M.M. Wekell; A. De Poala; R.F. Stott; J.M. Leitch (1987). Virulent strains of *Vibrio vulnificus* isolated from estuaries from the United states West coast. Appl. Environ. Microbiol., 53, 6, 1349-1351.
- Kimura, H.; R. Kusuda (1983). Microbial succession in gliding bacterium infection in red sea bream. Bull. Jap. soc. sci. Fish., 49, 1553-1559.
- Kneep, G.L.; G.F. Arkin (1973). Ammonia toxicity levels and nitrate tolerance on channel catfish. Progr. Fish Cult., 35, 221-224.

- Kremling, K., A. Wenk (1986). On the storage of dissolved inorganic phosphorus, nitrate and reactive silicate in Atlantic Ocean water samples. *Berichte der Deutschen wissenschaftlichen Kommission für Meeresforschung*, 31, 69-74.
- Kobatake, M.; Y. Tonogai; Y. Ito (1987). Proteolytic and lipolytic activities of bacteria isolated from spoiled seafoods. *J. Food Hyg. Soc. Japan.*; 28, 1, 30-31.
- Kodoma, H.; M. Moustafa; S. Ishiguro; T. Mikami; H. Zawa (1984). Extracellular virulence factors of fish *Vibrio*: relationship between toxic material, haemolysins, and proteolytic enzyme. *Am. J. Vet. Res.*, 45, 2203-2207.
- Kovacs, N. (1928). Eine vereinfachte Methode zum Nachweis der Indolbildung durch Bakterien. *A. Immunf.*, 55, 311.
- Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanae* by the oxidase reaction. *Nature*, 178, 703.
- Kobayashi, T.; S. Enomoto; S. Sakazaki, R. Kuwabara (1963). A new selective isolation medium for the *Vibrio* Group (modified Nakanishi medium - TCBS agar). *Jap. J. Bacteriol.*, 18, 387-392.
- Konikoff, M. (1975). Toxicity of nitrite to channel catfish. *Progr. Fish Cult.*, 37, 2, 96-98.
- Kubota, S.S.; M. Takakuwa (1963). Studies on the disease of marine - culture fishes. 1. General description and preliminary discussion of fish diseases at Mie Prefecture. *J. Fac. Fish. , Prefectural University of Mie*, 6, 107-124.
- Kulp, W.L.; D.G. Bordon (1942). Further studies on *Proteus hydrophilus*, the etiological agent in "red-leg" disease of frogs. *J. Bact.*, 44, 673-685.
- Kuo, S.C.; H.Y. Chung; H.Y. Koy (1981). Studies on artificial infection of the gliding bacteria in cultured fishes. *Fish Pathology*, 15, 3/4, 309-314.
- Kusuda, R.; H. Kimura (1982). Characteristics of gliding bacterium isolated from cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Bull. Jap. soc. sci. Fish.*, 48, 1107-1112.
- Lallier, R.; Y. Boulanger; G. Olivier (1980). Difference in virulence of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* in rainbow trout. *Progr. Fish Cult.*, 42, 4, 199-200.
- Landesamt für Wasserhaushalt und Küsten Schleswig-Holstein (1979). Untersuchung des Zustandes und der Benutzung der Eider von Rendsburg bis zur Mündung (Gew. 1. Ordnung), A12.
- Landesamt für Wasserhaushalt und Küsten Schleswig-Holstein (1987). Gütelängsschnitt Eider. Untersuchung des Zustandes und der Benutzung der Eider von Rendsburg bis zum Gisela-Kanal, A72.
- Landwüst v., C. (1991). Der Einfluß von im Tidenverlauf schwankenden Salzgehalten auf die Kondition der Flunder. Diplomarbeit, Universität Kiel.
- Larmoyeux, J.D.; R.G. Piper (1973). Effects of water reuse on rainbow trout in hatcheries . *Progr. Fish Cult.*, 35, 1, 2-8.
- Larsen, J.L.; P. Willeberg (1984). Der Einfluß des Festlandes und der Flußeinmündungen auf die Dichte der Umweltbakterien (Vibrionaceae) und der Fäkal-Koliformen in Küstengewässern. *Zentralbl. Bakteriologie Mikrobiol. Hyg., I. Abt. B.*, 179, 4, 308-323.
- Lee, J.V.; T.J. Donovan; A.L. Furniss (1978). Characterization, taxonomy, and emended description of *Vibrio metschnikovii*. *Int. J. System. Bact.*, 28, 99-111.

- Leifson, E. (1963). Determination of carbohydrates metabolism of marine bacteria. J. Bact., 85, 1183-1184.
- Lewis, W.M.; D.P. Morris (1986). Toxicity of nitrite to fish: A review. Trans. Am. Fish. Soc., 115, 2, 183-195.
- Li, M.F.; C. Flemming (1967). A proteolytic pseudomonad from skin lesion of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Characteristics of the pathogenic effects and the extra-cellular proteinase. Can. J. Microbiol., 13, 405-416.
- Li, M.F.; C. Jordan (1968). A proteolytic pseudomonad from skin lesions of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). II. Some properties of the proteinase. Can. J. Microbiol., 14, 975-880.
- Liebmann, H. (1960). Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie - München: Oldenbourg.
- Lindsay, G.J.H. (1986). The significance of chitinolytic enzymes and lysozyme in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) defence. Aquaculture, 51, 169-173.
- Lodeiros, C.; J. Bolinches; C.P. Dopazo; A.E. Toranzo (1987). Bacillary necrosis in hatcheries of *Ostrea edulis* in Spain. Aquaculture, 65, 1, 15-29.
- Lucht, F. (1964). Hydrographie des Elbeaestuars. Arch. Hydrobiol., 29, Suppl. Elbe-Aestuar 2, 1-96.
- Masumura, K., H. Wakabayashi (1977). An outbreak of gliding bacterial disease in hatchery-born red sea bream (*Pagrus major*) and gilthead (*Acanthopagrus schlegelii*) fry in Hiroshima. Fish Pathology, 12, 171-177.
- Marcus, L.C. (1971). Infectious disease of reptiles. J. Am. Vet. Med. Assoc., 159, 1629-1631.
- McCormack, W.M., W.E. Dewitt, P.E. Bailey, G.K. Morris, P. Soharjono, E.J. Gangarosa (1974). Evaluation of thiosulfate-citrate-bile salt-sucrose agar, a selective medium for the isolation of *Vibrio cholerae* and other pathogenic vibrios. J. Infect. Dis., 129, 497-500.
- McGarey, D.J.; T. Kraxberger Beatty, V.A. Alberts; D.T. Strake; D.V. Lim (1990). Investigation of potential microbial pathogens associated with Ulcerative Disease Syndrome (UDS) of Florida fish. In: Patology in Marine science - London: Academic press, 65-76.
- Miljø-Projekter (1981). Fiskepatologiske og mikrobiologiske undersøgelser i kystnaert marint miljø. Udført af: Laboratorium for akatisk patobiologi, ambulatorisk klinik og klinisk centrallaboratorium og institut for veterinær- og Landbohøjskole. for Miljøministeriet, København.
- Moeller, V. (1955). Simplified tests for amino acid decarboxylases and for arginine dehydrolase system. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 36, 158-172.
- Möller, H. (1981). Untersuchungen über den Gesundheitszustand der Unterweser-Fische. GKSS Forschungszentrum Geesthacht.
- Möller, H. (1984). Daten zur Biologie der Elbfische. - Kiel: Möller.
- Möller, H. (1988). Fischbestände und Fischkrankheiten in der Unterelbe 1984 - 1986. - Kiel: Möller.
- Möller, H. (1990). Association between diseases of flounder (*Platichthys flesus*) and environmental conditions in the Elbe estuary, FRG. J. Cons. int. Explor. Mer, 46, 187-199.
- Mudarris, M.; B. Austin (1988). Quantitative and qualitative studies of the bacterial microflora of turbot, *Scophthalmus maximus* L., gills. J. Fish Biol., 32, 223-229.
- Müller-Ruchholz, W. (1974). Infektion und Infektionskrankheit. In: Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Otte, H.J.; O. Brandis (Hrsg.). Unter Mitarbeit von K. Botzenhart ...- 4., völlig Neubearb. Aufl. - Stuttgart, New York: Fischer, 15-26.

- Munn, C.B. (1980). Production and properties of a haemolytic toxin by *Vibrio anguillarum*. In: Ahne, W. (ed). Fish diseases, Third COPRAQ-Session - Berlin: Springer, 69-74.
- Muroga, K.; G. Lio-Po; C. Pitago; R. Imada (1984). *Vibrio* spec. isolated from milkfish (*Chanos chanos*) with opaque eyes. Fish Pathology, 19, 81-87.
- Muroga, K. (1975). Studies on *Vibrio anguillarum* and *Vibrio anguillicida* infections. J. Fac. Fish. Anim. Husb., Hiroshima University, 14, 101-205.
- Muroga, K.; Y. Jo; M. Nishibuchi (1976). Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. 1. Characteristics and taxonomic status. Fish Pathology, 11, 141-145.
- Muus, B.J. (1967). The fauna of Danish estuaries and lagoons: Distribution and ecology of dominating species in the shallow reaches of the mesohaline zone. Med. fra. Danm. Fisk og. Havunders., 5, 1-316.
- Nemcsok, J.; K. Gyoere; J. Olah; L. Boross (1984). Effect of  $\text{NH}_3$  on blood glucose and catecholamine level, GOT, GPT, LDH enzyme activity and respiration of fishes. Fish Path. Env. Eur. Polycult. Sym. Biol. Hung., 23, 209-217.
- Nishibuchi, M.; K. Muroga (1977). Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. 3. NaCl tolerance and flagellation. Fish Pathology, 12, 87-92.
- Nishibuchi, M.; K. Muroga; R.J. Seidler; J.L. Fryer (1979). Pathogenic bacteria isolated from cultured eels. 4. Deoxiribonucleic acid studies. Bull. Jap. soc. sci. Fish., 45, 1469-1473.
- Nishibuchi, M.; K. Muroga (1980). Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. 5. Serological studies. Fish Pathology, 14, 117-124.
- Nolan, C.M.; J. Ballard; C.A. Kaysner; J.L. Lilja; L.P. Williams; F.C. Tenover (1984). *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis. An outbreak associated with raw oysters in the Pacific Northwest. Diag. Microbiol. Infect. Dis., 2, 2, 119-128.
- Ordal, E.J.; R.R. Rucker (1944). Pathogenic *myxobacteria*. Proc. Sc. exp. Biol. Med., 56, 15-18.
- Otte, E. (1963). Die heutigen Ansichten über die Ätiologie der Infektiösen Bauchwassersucht der Karpfen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift, 50, 995-1005.
- Otte, H.J.; H. Brandis (1978). Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Otte, H.J.; O. Brandis (Hrsg.). Unter Mitarbeit von K. Botzenhart... - 4., völlig Neubearb. Aufl. - Stuttgart, New York: Springer.
- Pacha, R.E., E.J. Ordal (1967). Histopathology of experimental columnaris disease in young salmon. J. comp. Path., 77, 419-423.
- Palleroni, N.J. (1984). 5. Section. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family I. Pseudomonaceae. In: Burgey's Manual of systematic Bacteriology, vol. 1 Krieg, N.R.; J.G. Holt (eds) - Baltimore Williams & Williams Co, 141-219.
- Peleteiro, M.C.; R.H. Richards (1985). Identification of lymphocytes in the epidermis of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis., 8, 161-172.
- Plehn, M. (1924). Praktikum der Fischkrankheiten. Stuttgart: Schweizerbart.
- Popoff, M. (1984). Section 5. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. Family II., Genus III., *Aeromonas*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Krieg, N.R.; J.G. Holt (eds). - Baltimore: Williams & Williams Co., 545-548.

- Pulverer, G.; K.P. Schaal (1978). Bakteriologische und serologische Technik. In: Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie. Otte, H.J.; O. Brandis (Hrsg.). Unter Mitarbeit von K. Botzenhart...- 4., völlig Neubearb. Aufl. Stuttgart, New York: Fischer, 179-212.
- Ransom, D.P.; C.N. Lannan; J.S. Rohovec; J.L. Fryer (1984). Comparison on histopathology caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* and three species of Pacific salmon. J. Fish Dis., 7, 107-115.
- Reichenbach, H. (1984). Order I. Cytophagales. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Krieg, N.R.; J.G. Holt (eds). - Baltimore: Williams & Williams Co.
- Reichenbach, H.; H. Kleinig, H. Achenbach (1974). The pigments of *Flexibacter elegans*. Novel and chemosystematically useful compounds. Arch. Microbiol., 101, 131-144.
- Reichenbach, H., M. Dworkin (1981). Chapter 21. The Order Cytophagales (with Addenda on the Genera *Herpetosiphon*, *Saprospira*, and *Flexithrix*). In: The Procaryotes. A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria. Mortimer, P.S., H. Stolp, H.G. Trüper, A. Balows, H.G. Schlegel (eds) - Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Reichenbach-Klinke, H.-H. (1980). Krankheiten und Schädigungen der Fische. Reichenbach-Klinke H.-H. (Hrsg.). Mit Beitr. von W. Ahne. 2. völlig Neubearb. Aufl., Stuttgart, New York: Fischer.
- Rheinheimer, G. (1965a). Mikrobiologische Untersuchungen in der Elbe zwischen Schnackenburg und Cuxhaven. Arch. Hydrobiol., 29, Suppl. Elbe Aestuar 2, 181-251.
- Rheinheimer, G. (1965b). Beobachtungen über die Bakterienverteilung im Elbe-Aestuar. Botanica Gothoburgensia, 3, 185-193.
- Rheinheimer, G. (1991). Mikrobiologie der Gewässer. Rheinheimer, G. (Hrsg.). 5. überarb. Aufl. - Jena: Fischer.
- Richards, R.H.; R.J. Roberts, H.-J. Schlotfeldt. Bakterielle Erkrankungen der Knochenfische. In: Grundlagen der Fischpathologie. Mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische. Roberts, J. (ed). Übersetzt u. Neubearb. v. H.-J. Schlotfeldt - Berlin: Parey, 174-207.
- Roberts, R.J., C.J. Shepherd (1974). Handbook of trout and salmon diseases. - London: Fishing News Ltd., 168.
- Roberts, R.J. (1976). Bacterial diseases of farmed fishes. In: Skinner, F.A.; J.G. Corr (eds). Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food. - London: Academic Press, 55-61.
- Rönnau, K. (1987). Historische Entwicklung und gegenwärtiger Stand der Fischerei auf der Unterelbe. Diplomarbeit, Universität Kiel.
- Rosenthal, H.; A.L.S. Munro (1985). Der aquatische Lebensraum, Umweltbedingungen in natürlichen Gewässern und Aquakulturanlagen. In: Grundlagen der Fischpathologie. Mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische. Roberts, J. (ed). Übersetzt u. Neubearb. v. H.-J. Schlotfeldt - Berlin: Parey, 1-22.
- Ross, A.J.; J.E. Martin; V. Bressler (1968). *Vibrio anguillarum* from an epizootic in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in the USA. Bull. Off. int. Epiz., 69, 1139-1148.
- Rucker, R.R.; H.E. Johnson; K.M. Kaydas (1952). Pantothenic acid gill disease. Progr. Fish Cult., 21, 22-25.



- Rucker, R.R. (1959). *Vibrio* infections among marine and freshwater fishes. *Progr. Fish Cult.*, 21, 22-25.
- Rucker, R.R. (1963). Status of fish diseases and relation to production. Report of the second Governor's Conference on Pacific Salmon, Seattle, 98-101.
- Russo, R.C.; C.E. Smith; R.V. Thurston (1974). Acute toxicity of nitrite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Res. Board Can.*, 31, 1635-1655.
- Russo, R.C. (1984). Ammonia, nitrite, and nitrate. *Fund. A. Tox.: Meth. Applic.*, 455-474.
- Sachs, L. (1988). *Angewandte Statistik. Anwendung statistischer Methoden*. 6. neubearb. Auflage. - Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Sakazaki, R., A. Balows (1981). Chapter 103. The Genera *Vibrio*, *Plesiomonas* and *Aeromonas*. In: *The Prokaryotes. A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria*. Starr, M.P.; H. Stolp; H.G. Trüper; A. Balows; H.G. Schlegel (eds). - Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1173-1301.
- Schäperclaus, W. (1926). *Bacterium fluorescens*- Infektion und Geschwulstbildung bei Aalen mit verschluckten Angelhaken. *Z. Fisch.*, 24, 157.
- Schäperclaus, W. (1979). *Fischkrankheiten*. Berlin: Akademie Verlag.
- Schlegel, H.G. (1985). *Allgemeine Mikrobiologie*. 6., überarb. Aufl./ unter Mitarbeit von K. Schmidt. - Stuttgart, New York: Thieme.
- Scherer, E. (1971). Effects of oxygen depletion and of carbon dioxide build up on the photic behavior of the walleye (*Stizostedion vitreum*). *J. Fish Res. Board Can.*, 28, 1303-1307.
- Schlottfeldt, H.J. (1985). *Grundlagen der Fischpathologie. Mit einer Einführung in die Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie und Immunologie sowie in den aquatischen Lebensraum der Knochenfische*. Roberts, J. (ed). Übersetzt und neubearbeitet v. H.-J. Schlottfeldt. - Berlin: Parey.
- Schnackebach, W. (1926). Biologische Untersuchungen über den Elbutt und die Schleppnetzfisherei in der Unterelbe. *Fischerbote*, 18, 232-241.
- Schreckenbach, K. (1974). Untersuchungen über *Vibrio anguillarum* und Versuche zur Immunprophylaxe von *Vibrio anguillarum* -Erkrankungen bei der industriemäßigen Aal- und Forellenproduktion im Süß- und Brackwasser. Dissertation, Humboldt-Universität, Berlin.
- Shewan, J. M., G. Hobbs, W. Hodgkiss (1960). The *Pseudomonas* and *Achromobacter* groups of bacteria in the spoilage of marine white fish. *J. Appl. Bacteriol.* 23, 463-468.
- Simidu, K.; E. Kaneko; K. Aiso (1969). Microflora of fresh and stored flatfish, *Kareius bicoloratus*. *Bull. Jap. soc. sci. Fish.*, 35, 77-82.
- Smith, C.E.; R.G. Piper (1975). Lesions associated with chronic exposure to ammonia. In: *The Pathology of Fishes*. Ribelin, W.E.; G. Migaki (eds). - Madison, Wis.: University of Wisconsin.
- Smith, I.W. (1961). A disease of finnock due to *Vibrio anguillarum*. *J. Gen. Microbiol.*, 74, 247-252.
- Süßmuth, R., J. Eberspächer, R. Haig, W. Springer (1987). *Biochemisch-mikrobiologisches Praktikum*. - Stuttgart, New York: Thieme.
- Sternier, E. (1916 b). Die niederelbische Küstenfisherei. II. Die Fischereiarten. 1. Die Buttfisherei. *Fischerbote*, 8, 253-257.

- Toranzo, A.E.; J.L. Barja; F.M. Hetrick (1982). Survival of *Vibrio anguillarum* and *Pasteurella piscida* in estuarine and fresh waters. Bull. Eur. Ass. Fish Path., 3, 43-45.
- Toranzo, A.E.; A.M. Baya; J.L. Romalde; F.M. Hetrick (1989). Association of *Aeromonas sobria* with mortalities of adult gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* Lesueur. J. Fish Dis., 12, 5, 439-448.
- Tanasomwang, V.; K. Muroga (1988) Intestinal microflora of larval and juvenile stages in japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish Pathology, 23, 2, 77-83.
- Taylor, W. L., D. Achanzar (1972). Catalase test as an aid to the identification of Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol., 24, 1, 58-61.
- Tonogai, Y.; M. Kobatake; K. Tahagi; Y. Ho (1989). The decomposition of fats in mackerel homogenates inoculated with yeast or bacteria. (studies on the spoilage of foods.VI.). J. Food. Hyg. soc. Japan., 30, 2, 138-145.
- Tubiash, H.S.; R.-R. Colwell, R. Sakazaki (1970). Marine vibrios associated with bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. J. Bact., 103, 272-273.
- Ullrich, S. (1989). Fischpathogene Bakterien im Wasser und in Fischen der Unterelbe. Diplomarbeit, Universität Kiel.
- Umbreit, W.W.; E.J. Ordal (1972). Infection of goldfish with *Vibrio anguillarum*. Am. Soc. Microbiolol. News, 32, 93-96.
- United States Pharmacopeia, XXI Edition (1985). Microbial Limit Tests.
- Vethaak, A.D. (1985). Prevalence of fish diseases with reference to pollution of Dutch coastel waters. Netherlands Institute for Fishery Investigation (RIVO), Ijminden, report CA 85-01 E and NS-N-86-01.
- Vethaak, A.D. (1987). Fish diseases, signals for a diseased environment? Proceedings of the second Sea Seminar '86, Rotterdam, 1-3. oct. In: Peet, G. (ed.), Reasons for concern, 2, Werkgroep Noordze, Amsterdam, 41-61.
- Vethaak, A.D.; T. Rheinallt (1990). A review and evaluation of the use of fish diseases in the monitoring of marine pollution in the North Sea. ICES C.M/E, 11.
- Vethaak, A.D.; J. van der Meer (1991). Fish disease monitoring in the Dutch part of the North Sea in relation to the dumping of waste from titanium dioxide production. Chem. Ecol., 5, 3, 149-170.
- Vethaak, A.D. (in press). Diseases of flounder (*Platichthys flesus* L.) in the Dutch Wadden Sea in 1988, and their relation to stress factors. Neth. J. Fish. Res.
- Wakabayashi, H.; K. Kanai; T.C. Hsu; S. Egusa (1981). Pathogenic activities of *Aeromonas hydrophila* biovar *hydrophila* (Chester) Popoff & Véron (1976) to Fishes. Fish Pathology, 15, 3-4, 319-325.
- Wakabayashi, H.; M. Hikida; K. Masumura (1984). *Flexibacter* infection in cultured marine fish in Japan. Helgoländer Meeresunters., 37, 587-593.
- Wakabayashi, H.; M. Hikida; K. Masumura (1986). *Flexibacter maritimus* sp. nov., a pathogen of marine fishes. Int. J. System. Bact., 36, 396-398.
- Watenpugh, D.E.; T.L. Beltinger (1985). Swimming performance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) after nitrite exposure. Bull. Environ. contam. Toxicol., 34, 5, 754-760.

- West, P.A.; C.J. Knowles, J.V. Lee (1980). Ecology of *Vibrio* species including *Vibrio cholerae*, in waters of Kent, United Kingdom. Soc. Gen. Microbiol. Quart. 7, 80.
- Whitefield, M.(1974).The hydrolysis of ammonium ions in sea water; a theoretical study. J. mar. biol. Ass. U.K., 54, 565-580.
- Wiklund, T. (1991). Etiologisk och bakteriologisk undersökning av sårsjuka hos flundra (*Platichthys flesus*) i norra östersjön. Licentiatavhandling, Institutionen för Biologi, Åbo Akademi.
- Wiklund, T.; G. Bylund (1991). A cytochrome oxidase negative bacterium (presumptively an atypical *Aeromonas salmonicida*) isolated from ulcerated flounders (*Platichthys flesus* (L.)) in the northern Baltic Sea. Bull. Eur. Ass. Fish Path., 11, 2, 74-76.
- Wiklund, T. (1991). Persönliche Mitteilung. Institute of parasitology, Åbo Akademi, Porthansgatan 3, 20500 Åbo, Finland.
- Wolke, R.E. (1975). Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish. In: The Pathology of Fishes. Ribelin, W.E.; G. Migaki (eds.) - Madison, Wis.: University of Wisconsin, 33-116.
- Yoshimizu, M.; T. Kimura (1976). Study on the Intestinal Microflora of Salmonids. Fish Pathology, 10, 2, 243-259.
- Yoshimizu, M.; T. Kimura; M. Sakai (1976). Studies on the intestinal microflora of salmonids - V. The intestinal microflora of the anadromous salmon. Bull. Jap. soc. sci. Fish, 42, 1281-1290.
- Yoshimizu, M.; T. Kimura; M. Sakai (1980). Studies on the intestinal microflora of salmonids. - VI. Microflora of the embryo and the fry of salmonids. Bull. Jap. soc. sci. Fish., 46, 967-975.
- Yoshimizu, M.; T. Kimura; M. Sakai (1990) Microflora of the embryo and fry of salmonids. Bull. Jap. soc. sci. Fish, 48, 967-975.
- Zimmermann, R. (1977). Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy. In: Rheinheimer, G. (ed.). Microbial ecology of a brackish water environment. - Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 103-120.
- ZoBell, E. (1946). Marine Microbiology. Waltham, Mass: Chronica Botanica Co.